

(12) NACH DEM VERTRAG ÜBER DIE INTERNATIONALE ZUSAMMENARBEIT AUF DEM GEBIET DES
PATENTWESENS (PCT) VERÖFFENTLICHTE INTERNATIONALE ANMELDUNG(19) Weltorganisation für geistiges Eigentum
Internationales Büro(43) Internationales Veröffentlichungsdatum
13. November 2003 (13.11.2003)

PCT

(10) Internationale Veröffentlichungsnummer
WO 03/092892 A1(51) Internationale Patentklassifikation⁷: B01L 3/00,
C30B 7/00, B01J 19/00

(21) Internationales Aktenzeichen: PCT/EP03/04454

(22) Internationales Anmeldedatum:
29. April 2003 (29.04.2003)

(25) Einreichungssprache: Deutsch

(26) Veröffentlichungssprache: Deutsch

(30) Angaben zur Priorität:
A 668/2002 30. April 2002 (30.04.2002) AT(71) Anmelder (für alle Bestimmungsstaaten mit Ausnahme von
US): GREINER BIO - ONE GMBH [DE/DE]; Maybach-
strasse 2, 72636 Frickenhausen (DE).

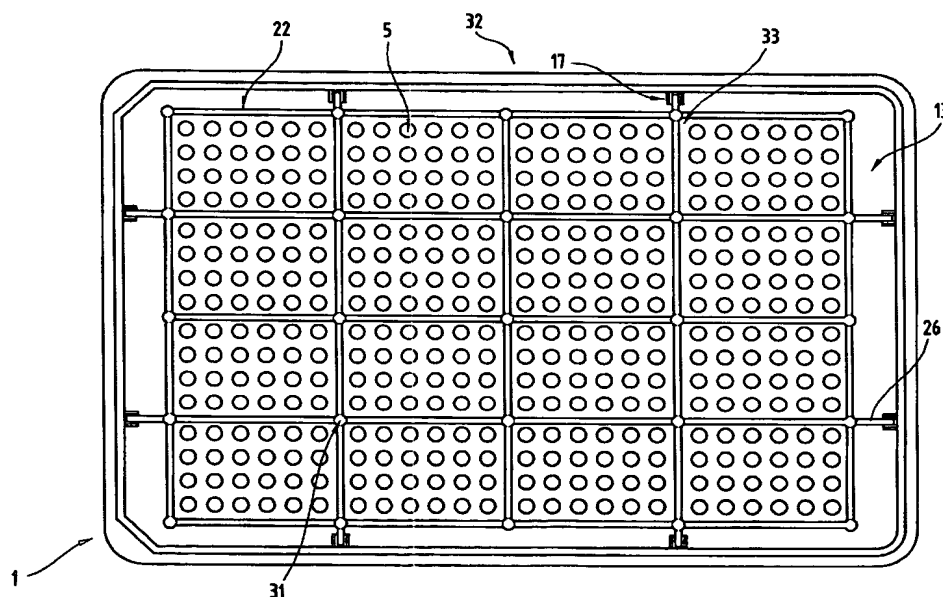
(72) Erfinder; und

(75) Erfinder/Anmelder (nur für US): KNEBEL, Günther
[DE/DE]; Plettenbergstrasse 35, 72622 Nürtingen (DE).
D'ARCY, Allan [GB/FR]; 7, rue du Sundgau, F-68220
Hegeheim (FR). CUDNEY, Robert, Earl [US/US]; 1
Derne Place, US Laguna Niguel, CA 92677 (US).(74) Anwalt: SECKLEHNER, Günter; Rosenauerweg 16,
A-4580 Windischgarsten (AT).(81) Bestimmungsstaaten (national): AE, AG, AL, AM, AT
(Gebrauchsmuster), AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BR, BY,
BZ, CA, CH, CN, CO, CR, CU, CZ (Gebrauchsmuster),
CZ, DE (Gebrauchsmuster), DE, DK (Gebrauchsmuster),
DK, DM, DZ, EC, EE (Gebrauchsmuster), EE, ES, FI (Ge-
brauchsmuster), FI, GB, GD, GE, GH, GM, HR, HU, ID,
IL, IN, IS, JP, KE, KG, KP, KR, KZ, LC, LK, LR, LS, LT,
LU, LV, MA, MD, MG, MK, MN, MW, MX, MZ, NI, NO,

[Fortsetzung auf der nächsten Seite]

(54) Title: DEVICE FOR PROTEIN CRYSTALLISATION

(54) Bezeichnung: VORRICHTUNG ZUR PROTEINKRISTALLISATION



(57) Abstract: The invention relates to a container (1) containing a base body (2) consisting of a base plate (3) and lateral walls (4) that protrude from the latter at least in an approximately perpendicular manner, in addition to cells (5) arranged in said base body (2). The cells (5) are configured as depressions in the base plate (3) and the lateral walls (4) of the base plate (3) are positioned in a direction that is approximately opposite the depressions for receiving a volume.

[Fortsetzung auf der nächsten Seite]



NZ, OM, PH, PL, PT, RO, RU, SC, SD, SE, SG, SK (Gebrauchsmuster), SK, SL, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN, YU, ZA, ZM, ZW.

PT, RO, SE, SI, SK, TR), OAPI-Patent (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, ML, MR, NE, SN, TD, TG).

Veröffentlicht:

— mit internationalem Recherchenbericht

- (84) **Bestimmungsstaaten (regional):** ARIPO-Patent (GH, GM, KE, LS, MW, MZ, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), eurasisches Patent (AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM), europäisches Patent (AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, HU, IE, IT, LU, MC, NL,

Zur Erklärung der Zweibuchstaben-Codes und der anderen Abkürzungen wird auf die Erklärungen ("Guidance Notes on Codes and Abbreviations") am Anfang jeder regulären Ausgabe der PCT-Gazette verwiesen.

(57) Zusammenfassung: Die Erfindung betrifft einen Behälter (1) mit einem Grundkörper (2), bestehend aus einer Bodenplatte (3) und von dieser zumindest annähernd senkrecht abstehenden Seitenwänden (4) und mit im Grundkörper (2) angeordneten Klüvetten (5). Die Klüvetten (5) sind als Vertiefung in der Bodenplatte (3) ausgebildet und die Seitenwände (4) der Bodenplatte (3) sind in zumindest annähernd entgegengesetzter Richtung zu den Vertiefungen zur Aufnahme eines Volumens angeordnet.

Vorrichtung zur Proteinkristallisation

Die Erfindung betrifft einen Behälter mit einem Grundkörper bestehend aus einer Bodenplatte und von dieser zumindest annähernd senkrecht abstehenden Seitenwänden und mit im Grundkörper angeordneten Küvetten, eine Einrichtung zur Unterteilung eines Volumens eines Behälters in Teilbereiche und eine Kristallisationsvorrichtung entsprechend den Merkmalen in den Oberbegriffen der Ansprüche 1, 18 und 27 sowie die Verwendung des Behälters, der Einrichtung und der Kristallisationsvorrichtung entsprechend den Ansprüchen 28 bis 30.

Durch die Sequenzierung des menschlichen Genoms erlangte man die Kenntnis, dass ca. 30.000 menschliche Gene vorhanden sind. Dies entspricht ungefähr 1 % des menschlichen Genoms. Jedes Gen im menschlichen Genom kodiert wiederum für mehr als ein Protein. Man nimmt daher an, dass es zwischen 200.000 bis 500.000 Proteine gibt, wobei allerdings nur ein Bruchteil der Proteine in einem bestimmten Zelltyp exprimiert wird. Hinzu kommt, dass Proteine auch posttranslationalen Veränderungen unterliegen. Sie erfolgen bevor die Proteine ihre endgültige biologische Funktion entfalten.

Man weiß inzwischen, dass nur geringfügige Proteinmodifizierungen und Veränderungen in der Natur der Proteininteraktionen und der Proteinlokalisation einen dramatischen Effekt auf die Zellphysiologie haben können. Auch die Konformation eines Proteins ist essentiell um die Rolle, die es ausübt, zu verstehen. Die Form eines Proteins ist auch pharmakologisch von großer Relevanz, weil die meisten Pharmazeutika aufgrund ihrer Fähigkeit mit einem bestimmten Proteinmolekül zu interagieren, ihre Wirkung entfalten.

Um die Funktion eines Biomakromoleküls auf atomaren Niveau zu verstehen, bedarf es des Wissens der dreidimensionalen Struktur. Die beste Methode um strukturelle Informationen über das Biomakromolekül zu erhalten, ist die Röntgenstrahlkristallographie. Sie ermöglicht die Bestimmung des Aufbaus eines Kristalls mit Hilfe der Messung der Reflexion und Beugung von Röntgenstrahlen an den Gitternetzebenen. Eine weitere Methode zur Proteinstrukturanalyse, die magnetische Kernresonanzspektroskopie (NMR), ist auf kleinere Proteine bis derzeit maximal 200 bis 300 kDa aus Lösungen limitiert. Im Falle der Röntgenstrahlkristallographie gibt es keine obere Grenze für die Masse der zu analysierenden Proteine, solange geeignete Kristalle erhalten werden können.

Die Morphologie eines Kristalls wird als Folge einer inneren Regelmäßigkeit angesehen.

BESTÄTIGUNGSKOPIE

Auch organische Materialien können Kristalle formen. Allerdings findet man organische Moleküle und Proteine in der Natur nur selten in kristalliner Form und muss deshalb Bedingungen finden um Proteinkristalle für die Strukturaufklärung wachsen zu lassen. Einige Proteine kristallisieren sehr gut, bei anderen wiederum ist es sehr zeitaufwendig die geeigneten Kristallisationsbedingungen zu finden. Einige Proteine konnten bis zum heutigen Tage nicht kristallisiert werden.

Vielfach wird die Proteinkristallisation auch als eine Kunst bezeichnet, weil ein Kristallzüchter nicht nur große Ausdauer und Geduld, sondern auch eine glückliche Hand braucht.

Die meisten Biomakromoleküle, wie z.B. Proteine, sind nur dann aktiv wenn die Polypeptidketten in ihrem nativen, korrekt gefalteten Zustand vorliegen. Sie müssen daher aus wässrigen Lösungen unter nicht denaturierenden Bedingungen kristallisiert werden. Die Kristallisation wird durch die Zugabe eines geeigneten Präzipitationsmittels eingeleitet, was zu einer Übersättigung und somit zur Präzipitation oder Kristallisation des Proteins führt. Alle Kristallisationsexperimente hängen von einer Vielzahl von Parametern, wie z.B. pH-Wert, Konzentration des Präzipitationsmittels, Temperatur, Ionenkonzentration, Liganden, etc., ab. Eine Kristallisation erfolgt nur, wenn eine geeignete Kombination von bestimmten Parametern vorliegt. Jedes Protein verhält sich individuell anders und unterscheidet sich in ihren optimalen Kristallisationsbedingungen, welche entweder durch Zufall oder durch ein enormes Arbeitspensum gefunden werden.

Proteine tragen an ihrer Oberfläche Aminosäuren mit geladenen, ionischen Gruppen. Es gilt nun, Bedingungen zu finden, unter denen die Proteinmoleküle sich langsam geordnet assoziieren. Dies gelingt im Falle der Proteinkristallisation durch langsames Verändern der Wassermenge, in welcher das Protein gelöst vorliegt, z.B. durch anorganische Salze. Das Salz bindet Wassermoleküle, wenn es in Lösung geht, weil es sich mit einer Wasserhülle umgibt und so dem Protein diese Wassermoleküle entzieht. Wird der Sättigungspunkt überschritten, beginnt das Protein auszufallen. Man kann die Kristallisation aber auch durch den gegenteiligen Prozess erreichen, indem man die Wassermenge steigert und so ein hydrophobes Enzym zur Kristallisation bringen kann. Neben Salzen können auch oberflächenaktive Substanzen wie das Detergens Polyethylenglykol zur Beeinflussung der Proteinhydrathülle verwendet werden. Um das Protein letztendlich kristallisieren zu können, müssen außerdem der richtige pH-Wert und die richtige Temperatur eingestellt werden. Proteinkristalle enthalten zahlreiche Wassermoleküle im Kristallgitter (30 % bis 70 %). Würde man sie wie Kristalle niedermolekularer

organischer oder anorganischer Substanzen behandeln, würden sie austrocknen - und schließlich könnte dann der gesamte Kristall zerstört werden.

Als Ergebnis einer Strukturanalyse erhält man das Abbild des Inhalts der Elementarzelle in Form einer Elektronendichte, da die Röntgenstrahlung an den Elektronen gebeugt wurde. Wie genau und detailliert die Elektronendichte bestimmt werden kann, hängt von der räumlichen Auflösung und letztendlich von der Qualität des vermessenen Kristalls ab. Durch Unordnungen und Baufehler im Kristall wird die Auflösung reduziert.

Es wurden Methoden für die Austestung so vieler wie möglich verschiedener Kristallisationsparameter geschaffen. Nachdem eine Vielzahl von Proteinen gescreent werden muss, um einen geeigneten Kristall für die Röntgenstrahlkristallanalyse zur Verfügung zu stellen, ist es notwendig eine Automatisierung der Kristallisationsexperimente herbei zu führen.

Die weitverbreitete Linbro-Platte zur Proteinkristallisation enthält 24 Küvetten, jedes mit einem Fassungsvermögen von ca. 3 ml, die individuell mit 24 Deckgläsern verschlossen werden. Obwohl zur Zeit erste Roboter zur Automatisierung der Kristallisationsexperimente für diese Platte auf dem Markt sind, treffen diese nicht die Erfordernisse für das Highthroughputscreening wie es für die dreidimensionale Proteinstrukturanalyse notwendig wäre. Weiters ist an der Linbro-Platte nachteilig, dass ihr Format nicht dem standardisierten Mikrotiterplattenformat entspricht, so dass sehr kostenintensive Anpassungen an Robotersystemen zur Bearbeitung für dieses Format erforderlich sind.

Für die Kristallisation von Proteinen haben sich die sogenannte „hanging drop“ und auch „sitting drop“ Methode in Kristallisationsplatten mit 24 Küvetten als geeignet erwiesen. Weil sehr häufig nur geringe Mengen an aufgereinigtem Protein (wenige Milligramm) zur Verfügung stehen ist das „hanging drop“ Verfahren derzeit noch die Methode der Wahl zur Proteinkristallisation. Ein 5 μ l bis 15 μ l großer Tropfen der konzentrierten Proteinlösung mit entsprechenden Präzipitationssubstanzen wird auf ein Mikroskopiergläschen aufgetragen. Dieses Gläschen wird dann kopfüber über einem Reservoir platziert, welches etwa 500 μ l einer konzentrierten Lösung an Präzipitationssubstanzen ohne Proteine enthält, so dass der Tropfen mit der Proteinlösung direkt über der Reservoirolösung (durch Adhäsionskräfte am Gläschen gehalten) positioniert ist. Das Deckgläschen versiegelt unter Zuhilfenahme von Silikonfett die Küvette, so dass das System nach außen hin hermetisch abgeschlossen ist. Sobald sich ein Gleichgewicht zwischen den beiden Lösungen eingestellt hat, kann das Protein kristallisieren.

Der Kristallisationsmechanismus ist zur Zeit noch nicht vollständig aufgeklärt und es bedarf daher eines sehr großen Aufwands um die Struktur von Biomakromolekülen darzustellen. Aus dem Stand der Technik sind Mikroplatten mit 24 Küvetten zur Kristallisation bekannt, allerdings ist für diese Platten der Automatisierungsgrad sehr niedrig, weil die standardisierten Automatisierungsgeräte für Mikroplatten mit 96 bzw. einem Vielfachen davon Küvetten konzipiert sind. Eine Automatisierung kann daher nur nach kostenintensiver Produktion speziell angefertigter Pipettier- bzw. Detektionseinrichtungen erfolgen. Außerdem kann mit diesen Platten nur eine geringe Anzahl (nämlich 24) von Biomakromolekülen analysiert werden. Diese Platten sind des weiteren vorwiegend zur Kristallisation von Biomakromolekülen mittels „hanging-“ bzw. „sitting- drop“ Methode ausgelegt und können nicht mittels der Kristallisation unter Öl-Methode (Microbatch-Methode) analysiert werden.

Aufgabe der Erfindung ist es daher, eine Möglichkeit zur Steigerung des Automatisierungsgrades bei der Analyse von Biomakromolekülen anzugeben. Eine Teilaufgabe der Erfindung liegt insbesondere darin, eine Vorrichtung zur Kristallisation von Biomakromolekülen zu schaffen, mit welcher es ermöglicht wird eine Vielzahl von unterschiedlichen Parametern gleichzeitig zu untersuchen.

Die Aufgabe der Erfindung wird durch den Behälter, entsprechend den Merkmalen im Kennzeichenteil des Anspruchs 1 gelöst. Es erweist sich von Vorteil, dass durch die Ausbildung der Küvetten als Vertiefungen in der Bodenplatte ein niedrigeres Niveau der überschichtenden hydrophoben Flüssigkeit notwendig ist. Einerseits kann durch das niedrige Niveau der hydrophoben Flüssigkeit ein Hinauskriechen der Flüssigkeit aufgrund der Kapillarwirkung entlang der Seitenwände des Behälters vermieden werden und somit die Kontaminationsgefahr durch beispielsweise verunreinigte Arbeitsflächen sowohl für das Laborpersonal als auch für weitere Analysen vermieden werden. Andererseits entstehen durch den geringeren Bedarf an hydrophober Flüssigkeitsmenge niedrigere Kosten. Ein niedrigeres Niveau der hydrophoben Flüssigkeit begünstigt außerdem das Kristallisationsverhalten der Biomakromoleküle, indem der Kristallisationsprozess früher einsetzt. Weiters ist von Vorteil, dass auch ein geringeres Volumen sowohl der an der Reaktion beteiligten Präzipitationslösungen als auch der zu analysierenden Biomakromoleküle benötigt wird.

Gemäß Anspruch 2 werden auf vorteilhafte Weise durch die gleichartige Anordnung der Küvetten bei der automatisiert durchgeführten Manipulation des Behälters relativ zu gleichen Bezugspunkten der Küvetten auch für verschiedene Küvetten stets die gleichen parallel zur

Aufstandsebene auszuführenden Bewegungen durchgeführt.

Von Vorteil nach Anspruch 3 erweist sich, dass viele verschiedene Biomakromoleküle gleichzeitig analysiert werden können.

5

Von Vorteil ist eine Weiterbildung nach Anspruch 4, wobei durch die standardisierte Anordnung der konischen bzw. zylindrischen Küvetten eine sehr platzökonomische Gestaltung des Behälters erreicht wird. Es wird der gesamte zur Verfügung stehende Platz von den Küvetten besonders gut ausgenützt.

10

Vorteilhaft ist weiters eine Ausgestaltung nach Anspruch 5, wonach nur ein sehr geringes Volumen für die Reaktion eingesetzt werden muss. Durch die Verwendung der geringen Volumina wird eine sehr kosteneffektive Analyse ermöglicht.

15

Von Vorteil ist dabei eine Ausgestaltung nach Anspruch 6, wonach durch die regelmäßige Anordnung der Küvetten eine besonders einfache Bearbeitung des Behälters möglich wird. Es wird sowohl das Befüllen der Küvetten erleichtert, als auch die Beobachtung der Probe während der Verarbeitung und das Ernten der Kristalle.

20

Als vorteilhaft erweist sich weiters die Ausgestaltung nach den Ansprüchen 7 und 8, wonach durch eine Oberflächenbehandlung die Ausbildung von Biomakromoleküle verbessert werden kann.

25

Vorteilhaft ist dabei die Ausformung des Behälters nach Anspruch 9, wobei die Böden der Küvetten zumindest annähernd konvex gekrümmt sind, wird der Vorteil erzielt, dass Flüssigkeitstropfen in derart geformten Küvetten leichter aufgenommen werden und sich der Tropfen besser im Zentrum der Küvette ansiedelt. Beim Einsetzen eines Flüssigkeitstropfens wirkt nämlich die Oberflächenspannung der Adhäsion zwischen den Wänden einer Ausnehmung und der Grenzfläche des Flüssigkeitstropfens um so weniger entgegen, je mehr die Form der Ausnehmung der annähernd kugelförmigen Krümmung eines Flüssigkeitstropfens entspricht.

30

Von Vorteil ist dabei eine Ausgestaltung nach Anspruch 10, wonach eine automatisierte Bearbeitung des Behälters und insbesondere der Küvetten zur Kristallisation von Biomakromolekülen erleichtert wird.

35

Weiters erweist sich eine Ausgestaltung nach Anspruch 11 von Vorteil, weil eine optische Kontrolle während des Arbeitsvorganges bzw. während der Inkubation des Behälters ermöglicht wird. Dadurch kann in geeigneter Weise noch nach Zubereitung des Reaktionsgemisches in die Reaktion eingegriffen werden.

5

Von Vorteil ist auch die Weiterbildung nach Anspruch 12, wonach durch die teilweise lichtundurchlässige Ausbildung Streulicht, welches das Messergebnis fälschen könnte, während der Detektion vermieden werden kann.

10

Vorteilhaft ist weiters eine Weiterbildung nach Anspruch 13, wonach ein Verschieben bzw. Verrutschen der Tropfen in den Küvetten, auch wenn deren Wände nur eine minimale Höhe, wie z.B. 0,1 mm, aufweisen, verhindert wird und somit das Verweilen des Biomakromoleküls an der gleichen Position während der gesamten Reaktion und des Analysevorgangs gewährleistet ist.

15

Von Vorteil ist dabei eine Weiterbildung nach den Ansprüchen 14 und 29, weil die Materialien resistent gegenüber organischen Lösungsmitteln, wie z.B. Azeton, Benzen, Acetonitril, Dioxan, 2,2,2 Triflouroethanol, sind. Des weiteren sind sie mit verschiedenen, häufig gebrauchten Salzen, Puffern und Polymeren, die für die Kristallisation verwendet werden, kompatibel. Polypropylen und Cycloolefin-Copolymere (COC) sind außerdem weniger permeabel für Wasserdampf und daher weniger sensitiv für die Verdunstung, als Behälter aus beispielsweise Polystyrol.

20

25

Von Vorteil ist weiters eine Ausgestaltung nach Anspruch 15, wonach durch den Einsatz verschiedener Kunststoffe für die Ausbildung des Behälters verschiedene Eigenschaften ermöglicht werden können. Beispielsweise müssen nur die Küvetten den Belastungen durch organische Lösungsmittel widerstehen können, allerdings ist diese Erfordernis für die Seitenwände nicht gegeben.

30

Gemäß Anspruch 16 wird eine einfache Orientierung während des Arbeitens mit dem Behälter ermöglicht. Des weiteren kann durch eine entsprechende Markierung des Behälters auch ein internes Kontrollsystem und Orientierungssystem für die automatisierte Bearbeitung eingearbeitet werden.

35

Vorteilhaft ist weiters eine Ausgestaltung nach Anspruch 17, wonach durch das ausgewählte

Herstellungsverfahren eine rasche und kostengünstige Produktion des Behälters ermöglicht wird.

5 Dabei erweist sich eine Ausgestaltung nach Anspruch 18 vorteilhaft, wonach durch die standardisierten Abmessungen des Behälters eine Automatisierung der Arbeiten mit den Behältern ermöglicht wird. Durch die Möglichkeit der automatisierten Bearbeitung kann eine Vielzahl von Proben gleichzeitig analysiert werden. Durch die Anordnung der Küvetten nach dem SBS-Standard wird auch eine sehr hohe Dichte der Küvetten erreicht. Außerdem erweist sich von Vorteil, dass durch die Automatisierung ein gleichzeitiges Befüllen mehrerer Küvetten möglich ist. Vorteilhaft an dieser Ausgestaltung ist weiters, dass durch die standardisierte Anzahl der Küvetten, die für Befüllungs- und Untersuchungseinrichtungen, wie sie für Mikrotiterplatten verwendet werden, auch für den erfindungsgemäßen Behälter verwendet werden können.

15 Eine Ausgestaltung nach Anspruch 19 erweist sich von Vorteil, wonach durch das Befüllen der Ausnehmung mit einer Flüssigkeit eine Verdunstung der Kristallisationsreagenzien und der hydrophoben Flüssigkeit reduziert werden kann, und dadurch die Konzentrationen dieser Reagenzien während des gesamten Reaktionsvorgangs und des Analysevorgangs konstant gehalten werden kann.

20 Weiters erweist sich eine Weiterbildung nach Anspruch 20 von Vorteil, wonach durch das Anbringen zumindest eines Halteelements die Einrichtung zur Unterteilung eines Volumens eines Behälters in Teilbereiche an einer vordefinierten Position angebracht werden muss und somit die Reproduzierbarkeit des Experiments einfacher ermöglicht wird.

25 Die Aufgabe der Erfindung wird eigenständig auch durch die Einrichtung entsprechend den Merkmalen im Kennzeichenteil des Anspruches 21 gelöst. Vorteilhaft daran ist, dass durch das Anbringen der Einrichtung im Behälter Schwankungen im Flüssigkeitsniveau während des Transports des Behälters sehr niedrig gehalten werden. Vorteilhaft daran ist auch, dass Schwankungen der hydrophoben Flüssigkeit, welche die Küvetten überschichtet, ausgeglichen werden können. Sowohl durch die manuelle als auch durch die automatisierte Bearbeitung des Behälters kann es immer wieder zu geringfügigen Erschütterungen kommen, welche eine Umpositionierung des Biomakromoleküls und somit eine Störung des Kristallisationsprozesses verursachen könnten. Durch den Einsatz der Einrichtung wird eine konstante Positionierung des Biomakromoleküls in der Ausnehmung während des gesamten Kristallisationsprozesses, die mehrere Tage, sogar einige Monate, dauern kann, gewährleistet auch wenn

30

35

der Behälter gegebenenfalls mehrmals den Standort wechseln muss. Weiters ist von Vorteil, dass durch die Funktion eines Wellenbrechers eine effiziente automatisierte Bearbeitung mit höherer Geschwindigkeit erfolgen kann. Es wird dennoch ermöglicht, eine durchgehende Überschichtung der Küvetten mit dem hydrophoben Flüssigkeitsmittel zu ermöglichen, weil die

5 Stege beabstandet zur Aufstandsfläche angeordnet sind und somit immer eine konstante Konzentration des hydrophoben Flüssigkeitsmittels über jeder Ausnehmung bzw. über der Gesamtheit der Küvetten gegeben ist.

Von Vorteil ist dabei eine Weiterbildung nach Anspruch 22, wonach eine erhöhte Stabilität

10 der Einrichtung erzielt werden kann. Durch die erzielte erhöhte Stabilität kann die Einrichtung während des Experiments manipuliert werden. Des weiteren kann sie sogar nach gründlich erfolgter Reinigung mehrmals für unterschiedliche Experimente verwendet werden.

Durch die Weiterbildung nach Anspruch 23 kann erreicht werden, dass die Teilbereiche strömungsverbunden sind. Durch diese Strömungsverbindung kann im gesamten Behälter ein

15 Ausgleich von Konzentrationsunterschieden zwischen den Teilbereichen erzielt werden und somit im gesamten Behälter die gleichen Reaktionsbedingungen gewährleistet werden.

Gemäß Anspruch 24 wird eine Konformität mit der Anordnung der Küvetten im Behälter erzielt, und somit die automatisierte Bearbeitung erleichtert.

20

Vorteilhaft erweist sich dabei eine Ausbildung nach Anspruch 25, wonach durch die ausreichende Beabstandung der Stege von der Aufstandsfläche eine ungehinderte Verteilung der hydrophoben Flüssigkeitsmenge über die gesamte Bodenplatte des Behälters ermöglicht wird,

25 und dadurch die einzelnen Teilbereiche miteinander strömungsverbunden sind.

Dabei erweist sich eine Ausgestaltung nach Anspruch 26 von Vorteil, wonach durch das Anliegen der Stege an die Bodenplatte eine flüssigkeitsdichte Barriere für das hydrophobe Flüssigkeitsmittel geschaffen wird. Durch das Anliegen der Stege an die Bodenplatte kann somit

30 ermöglicht werden, dass auf einer Bodenplatte viele verschiedene hydrophobe Flüssigkeitsmittel, wie z.B. Silikonöl oder Paraffinöl, bzw. viele verschiedene Verhältnisse der hydrophoben Flüssigkeitsmittel, beispielsweise Silikonöl zu Paraffinöl im Verhältnis 1:1, oder 1:2, oder 2:1, etc., zueinander ausgetestet werden können. Des weiteren erweist sich von Vorteil, dass durch die Entstehung der Teilbereiche Verdünnungsreihen verschiedener an der Reaktion

35 beteiligter Reagenzien, beispielsweise der Präzipitationslösung, ausgetestet werden können

Von Vorteil ist dabei eine Weiterbildung nach Anspruch 27, wonach durch die beabstandete Anordnung des Gitters zu den Seitenwänden ein leichteres Ein- und Ausfügen des Gitters in den Behälter ermöglicht wird. Weiters ist von Vorteil, dass durch die Anbringung der Abstandhalter, der Rahmen nicht exakt in den Behälter angepasst werden muss.

5

Vorteilhaft ist weiters eine Ausführung nach Anspruch 28, wonach eine einfachere Manipulation der Einrichtung, insbesondere eine leichteres Einfügen bzw. Herausnehmen aus dem Behälter, ermöglicht wird.

10 Die Aufgabe der Erfindung wird eigenständig auch durch die Kristallisationsvorrichtung entsprechend den Merkmalen im Kennzeichenteil des Anspruches 30 gelöst. Vorteilhaft darin ist, dass sowohl der Reagenzienverbrauch als auch der Biomakromolekülverbrauch minimiert werden kann. Weiters ist von Vorteil, dass durch den geringen Bedarf an Biomakromolekülen die Experimente mehrmals mit dem gleichen Ausgangsmaterial wiederholt werden können
15 und dadurch eine neuerliche aufwendige Herstellung des Biomakromoleküls vermieden werden kann. Von Vorteil ist auch, dass mehrmals das gleiche Biomakromolekül eines Isolierungsvorganges verwendet werden kann, und somit Unterschiede im Analyseergebnis aufgrund von unterschiedlichen Isolationsbedingungen ausgeschlossen werden können.

20 Die Aufgabe der Erfindung wird eigenständig auch durch die Verwendung des Behälters entsprechend den Merkmalen im Kennzeichenteil des Anspruches 31 gelöst. Vorteilhaft darin ist, dass eine Vielzahl von Proteinen gleichzeitig unter den gleichen Bedingungen kristallisiert werden kann.

25 Die Aufgabe der Erfindung wird eigenständig auch durch die Verwendung der Einrichtung entsprechend den Merkmalen im Kennzeichenteil des Anspruches 32 gelöst. Vorteilhaft daran ist, dass die Einrichtung als Wellenbrecher für die hydrophobe Flüssigkeit dient.

30 Die Aufgabe der Erfindung wird eigenständig auch durch die Verwendung der Kristallisationsvorrichtung entsprechend den Merkmalen im Kennzeichenteil des Anspruches 33 gelöst. Von Vorteil erweist sich, dass durch die große Anzahl der Kristallisationsexperimente in kurzer Zeit ein Degradieren des Biomakromoleküls verhindert werden kann. Des weiteren können für ein Biomakromolekül mehrere unterschiedliche Kristallisationsbedingungen gleichzeitig ausgetestet werden.

35

Zum besseren Verständnis der Erfindung wird diese anhand der nachfolgenden Figuren näher erläutert, wobei diese in schematisch vereinfachter Darstellung einen Behälter zur Probenaufnahme zeigen.

- 5 Die Erfindung wird im nachfolgenden anhand der in den Zeichnungen dargestellten Ausführungsbeispiele näher erläutert.

Es zeigen:

- 10 Fig. 1 einen Behälter zur Probenaufnahme mit 96 Küvetten;
- Fig. 2 einen Behälter zur Probenaufnahme mit 384 Küvetten;
- Fig. 3 einen Behälter mit 96 Küvetten mit Halteelement für eine Einrichtung;
- 15 Fig. 4 einen Behälter mit 384 Küvetten mit Halteelement für eine Einrichtung;
- Fig. 5 eine Einrichtung zur Unterteilung eines Volumens mit seitlichen Abstandhalter angeordnet in einem 4 x 4 Raster;
- 20 Fig. 6 eine Einrichtung zur Unterteilung eines Volumens mit seitlichen Abstandhalter angeordnet in einem 6 x 4 Raster;
- Fig. 7 eine Einrichtung mit zylindrischen Abstandhalter;
- 25 Fig. 8 einen Schnitt einer Einrichtung mit plattenförmigen Abstandhalter;
- Fig. 9 einen Schnitt eine Einrichtung zur Unterteilung eines Volumens;
- 30 Fig. 10 eine Draufsicht einer Kristallisationsvorrichtung;
- Fig. 11 eine Seitenansicht einer konischen Küvette mit halbkugeligem Boden;
- Fig. 12 eine Seitenansicht einer zylindrischen Küvette mit flachem Boden;

Fig. 13 eine Seitenansicht einer zylindrischen Küvette mit halbkugeligem Boden;

Fig. 14 eine Seitenansicht einer zylindrischen Küvette mit kegelförmigen Boden;

5 Fig. 15 eine Seitenansicht einer konischen Küvette mit flachem Boden;

Fig. 16 eine Seitenansicht einer konischen Küvette mit kegelförmigen Boden;

10 Fig. 17 eine Prinzipdarstellung eines Verwendungsbeispiels einer Kristallisationsvorrichtung.

Einführend sei festgehalten, dass in den unterschiedlich beschriebenen Ausführungsformen gleiche Teile mit gleichen Bezugszeichen bzw. gleichen Bauteilbezeichnungen versehen werden, wobei die in der gesamten Beschreibung enthaltenen Offenbarungen sinngemäß auf gleiche Teile mit gleichen Bezugszeichen bzw. gleichen Bauteilbezeichnungen übertragen werden können. Auch sind die in der Beschreibung gewählten Lageangaben, wie z.B. oben, unten, seitlich usw. auf die unmittelbar beschriebene sowie dargestellte Figur bezogen und bei einer Lageänderung sinngemäß auf die neue Lage zu übertragen. Weiters können auch Einzelmerkmale oder Merkmalskombinationen aus den gezeigten und beschriebenen unterschiedlichen Ausführungsbeispielen für sich eigenständige, erfinderische oder erfindungsgemäße Lösungen darstellen.

Die Proteinkristallisation ermöglicht einen Zugang zur dreidimensionalen Struktur eines beliebigen Proteins. Außerdem ist sie auch in der Lage, die Lücke zwischen der genomischen und der Strukturinformation von Biomakromolekülen zu überbrücken. Nicht alleine das Vorhandensein des Proteins ist maßgebend für deren Funktion, sondern auch die Konformation. Die Struktur des Proteins gibt auch wichtige Informationen über die Interaktionen mit anderen Molekülen.

30 Die Fig. 1 und 2 zeigen eine Draufsicht auf einen Behälter 1 mit einem Grundkörper 2, bestehend aus einer Bodenplatte 3 und Seitenwände 4. Die Bodenplatte 3 besteht aus Küvetten 5, die vom Boden 6 und den Wänden 7 gebildet werden. Die Seitenwände 4 umschließen den Reaktionsbereich 8. Ein Behälter 1, wie in Fig. 1 und 2 beschrieben, ist für Versuchsdurchführungen, bei denen es besonders auf die Miniaturisierung ankommt, geeignet. So ist es z.B. 35 möglich, eine größere Zahl von Küvetten 5 in einem dafür vorgesehenen Grundkörper 2 eines

Behälters 1 anzuordnen um dadurch eine große Zahl von Reaktionsbereichen 8 gleichzeitig zu schaffen. Fig. 1 und 2 zeigen eine beispielhafte Anordnung von einer Vielzahl von Küvetten 5 in einem Behälter 1, die in Fig. 1 eine Anzahl von 96 Küvetten 5 und in Fig. 2 eine Anzahl von 384 Küvetten 5 umfasst. Der Grundkörper 2 des Behälters 1 ist gemäß einer Standardgröße einer Mikrotiterplatte ausgebildet und besitzt Abmessungen gemäß den Empfehlungen der SBS (Society of Biomolecular Screening; www.SBSONline.org), wobei der Behälter 1 eine Gesamthöhe ausgewählt aus einem Bereich mit einer unteren Grenze von 6 mm, vorzugsweise 8 mm, insbesondere 10,4 mm, und einer oberen Grenze von 22 mm, vorzugsweise 16 mm, insbesondere 14,4 mm, aufweist.

Die Küvetten 5 sind in einem rechtwinkeligem Raster angeordnet. Dabei bilden jeweils benachbarte Küvetten 5, die jeweils ihnen eigens zugeordnete Wände 7 besitzen, voneinander getrennte und zueinander parallele Reihen. Diese Reihen sind parallel zur Längserstreckung des Behälters 1 ausgerichtet, wobei jeweils aufeinander folgende Reihen von Küvetten 5 in einem gleichen Abstand angeordnet sind. In einer alternativen Ausführungsvariante eines Behälters 1 können die Reihen aber auch normal zur Längserstreckung ausgerichtet sein.

Die Küvetten 5 sind in Reihen angeordnet. Der Begriff Reihe ist dabei stets in geometrischem Sinn als eine lineare Anordnung von zueinander gleichen Objekten zu verstehen, sodass jeweils gleichartige Punkte der Objekte auf einer gemeinsamen Geraden liegen. Die Küvetten 5 bilden einen Reaktionsbereich 8, wobei jeder Küvette 5 eine eigene Wand 7 zugeordnet ist. Bei sehr dichter Anordnung der Küvetten 5 kann eine Wand 7 benachbarten Küvetten 5 gemeinsam zugeordnet werden.

Die Seitenwände 4 der Bodenplatte 3 bilden mit ihrer Unterkante die Behälteraufstandsfläche. Die Böden 6 der Küvetten 5 sind in einer Ebene parallel zur Aufstandsebene angeordnet. Der Abstand des Bodens 6 der Küvetten 5 zur Oberfläche 14 der Bodenplatte 3 ist geringer als der Abstand der Unterkante der Seitenwände 4 des Behälters 1 zur Oberfläche 14 der Bodenplatte 3. Die Böden 6 der Küvetten 5 sind daher in einem Abstand ausgewählt aus einem Bereich mit einer unteren Grenze von 0,1 mm, insbesondere 0,3 mm, vorzugsweise 0,5 mm, und einer oberen Grenze von 7 mm, insbesondere 6 mm, vorzugsweise 5 mm, angeordnet. Als vorteilhaft haben sich auch Abstände ausgewählt aus einem Bereich mit einer unteren Grenze von 0,7 mm, insbesondere 1 mm, vorzugsweise 1,5 mm, und einer oberen Grenze von 4 mm, insbesondere 3 mm, vorzugsweise 2 mm, erwiesen.

In einer alternativen Ausführungsform kann die Bodenplatte 3 auf einer Ebene parallel zur Aufstandsebene, auf welcher auch der Boden 6 der Küvetten 5 angeordnet ist, liegen. Die Bodenplatte 3 und der Boden 6 der Küvetten 5 sind in dieser Variante auf derselben Ebene angeordnet. Die Oberkante der Wände 7 der Küvetten 5 liegt somit in einer Ebene parallel zur Aufstandsebene aber in einem größeren Abstand als die Ebene, in welche der Boden 6 der Küvetten 5 angeordnet ist.

Die Küvetten 5 haben im Reaktionsbereich 8 ein Fassungsvermögen von einem Volumen ausgewählt aus einem Bereich mit einer unteren Grenze von 0,01 μl , vorzugsweise 0,5 μl , insbesondere 0,1 μl , und einer oberen Grenze von 50 μl , vorzugsweise 10 μl , insbesondere 5 μl . Die Küvetten 5 haben einen Durchmesser, ausgewählt aus einem Bereich mit einer oberen Grenze von 10 mm, vorzugsweise 7 mm, insbesondere 5 mm und einer unteren Grenze von 0,1 mm, vorzugsweise 0,3 mm, insbesondere 0,5 mm. Besonders vorteilhaft haben sich Durchmesser, ausgewählt aus einem Bereich mit einer oberen Grenze von 4 mm, vorzugsweise 3 mm, insbesondere 2 mm und einer unteren Grenze von 0,6 mm, vorzugsweise 0,7 mm, insbesondere 0,9 mm, erwiesen. Die Höhe der Küvetten 5 ist aus einem Bereich mit einer unteren Grenze von 0,1 mm, vorzugsweise 0,2 mm, insbesondere 0,3 mm und einer oberen Grenze von 12 mm, vorzugsweise 10 mm, insbesondere 6 mm, ausgewählt. Besonders vorteilhaft haben sich Höhen der Küvetten, ausgewählt aus einem Bereich mit einer unteren Grenze von 0,5 mm, vorzugsweise 0,6 mm, insbesondere 0,8 mm und einer oberen Grenze von 5 mm, insbesondere 3 mm, vorzugsweise 2 mm, und besonders vorteilhaft von 1 mm, erwiesen.

Der Behälter 1 und die Küvetten 5 sind zur Aufnahme von Flüssigkeiten bzw. Lösungen bestimmt. Der Behälter 1 ist insbesondere zur Aufnahme von hydrophoben Flüssigkeiten 9 und die Küvetten 5 sind insbesondere zur Aufnahme des Tropfens 10, bestehend aus einem Biomakromolekül 11 kombiniert mit Kristallisationsreagenzien 12, und der hydrophoben Flüssigkeit 9 bestimmt. Das Reservoir 13 wird mit der hydrophoben Flüssigkeit 9 dermaßen befüllt, dass die hydrophobe Flüssigkeit 9 auch in die Küvetten 5 des Behälters 1 bei Verwendung des Behälters 1 in seiner Gebrauchslage gelangt. D.h. die gesamte Oberfläche 14 der Bodenplatte 3 des Behälters 1 ist somit mit der hydrophoben Flüssigkeit 9 bedeckt. Die Küvetten 5 sind zur Durchführung von Reaktionen, die zur Herstellung eines Kristalls aus in Kristallisationsreagenzien 12 gelösten Biomakromolekülen 11 dienen, bestimmt.

Die Oberfläche 14 der Bodenplatte 3 kann zwischen den Küvetten 5 mit einer hydrophoben Substanz, wie z.B. Fett, insbesondere Silikonfett, Öl, Polyethylenglykol, Polytetrafluorethy-

len, etc., oberflächenbehandelt sein. Alternativ kann auf die Oberfläche 14 der Bodenplatte 3 eine hydrophobe Maske aufgebracht sein, sodass sich im Reaktionsbereich 8 der Tropfen 10 befindet und zwischen den Reaktionsbereichen 8 die hydrophobe Flüssigkeit 9 vorhanden ist. Durch die hydrophoben Zwischenräume bleibt der Tropfen 10 während der gesamten Analyse an der selben Position des Behälters 1. Zusätzlich kann die Oberfläche 14 der Bodenplatte 3 zwischen den Reaktionsbereichen 8 eine mattierte Struktur aufweisen.

Der Behälter 1 wird im speziellen für die Kristallisation von Biomakromolekülen 11 unter einer hydrophoben Flüssigkeit 10, auch als „Microbatch-Methode“ bekannt, verwendet.

Kristallisation unter Öl ist eine Methode, wo ein kleiner Tropfen 10, bestehend aus einem Biomakromolekül 11 kombiniert mit Kristallisationsreagenzien 12, unter eine Ölschicht pipettiert wird. Das Verhältnis des Volumens des Biomakromoleküls 11 zu den dazu benötigten Kristallisationsreagenzien 12 befindet sich meist in einem Volumenverhältnis von 1:1 und der Tropfen 10 umfasst ein Gesamtvolumen von 1 µl bis 2 µl. Es können jedoch auch Tropfen 10 mit einem Volumen von bis zu 5 µl in die Küvetten 5 pipettiert werden. Die am häufigst verwendeten hydrophoben Flüssigkeiten 9 sind Paraffinöl oder Silikonöl oder ein Gemisch aus diesen beiden Ölen, meist im Verhältnis von 1:1. Es können aber auch andere Verhältnisse von Paraffinöl zu Silikonöl verwendet werden, um die Diffusionsrate des Tropfens zu verändern (je höher der Prozentanteil des Silikonöls ist, um so rascher erfolgt die Diffusion und die Verdunstung).

Wahlweise kann das Material für die Bildung des Bodens 6 der Küvetten 5 lichtdurchlässig und die Bodenplatte 3 kann aus einem lichtundurchlässigen bzw. lichtabschirmenden Material gebildet bzw. mit einer lichtundurchlässigen bzw. lichtabschirmenden Schicht versehen werden. Durch die lichtabschirmende Wirkung wird störende Einflüsse von Streulicht bei der optischen Beobachtung des Reaktionsablaufs in den Reaktionsbereichen 8 verhindert. Der Behälter 1 kann selbstverständlich auch gesamt von einem lichtdurchlässigen bzw. lichtundurchlässigen Kunststoff gebildet werden.

Die Fig. 2 und 3 zeigen Ausnehmungen 15, die sowohl an der Längsseite 19 als auch an der Querseite 20 des Grundkörpers 2 bzw. entweder an der Längsseite 19 oder an der Querseite 20 angeordnet sein können. Die Ausnehmung 15 kann zusätzlich durch Trennwände 16 in mehrere kleinere Teilbereiche unterteilt werden. Die Ausnehmungen dienen zur Aufnahme von Flüssigkeiten, wobei sich in jedem Teilbereich beispielsweise verschiedene Flüssigkeiten oder unterschiedliche Konzentrationen der gleichen Flüssigkeit befinden können, welche eine

Verdunstung der Kristallisationsreagenzien 12 bzw. der hydrophoben Flüssigkeit 9 verhindern bzw. minimieren. Die Oberkante der Begrenzungen der Ausnehmungen 15 liegt auf derselben Ebene wie die Oberkante der Wände 7 der Küvetten 5. Alternativ kann die Oberkante der Ausnehmung 15 auch in einer parallelen Ebene, allerdings in einem größeren Abstand als die Ebene der Oberkante der Wände 7 der Küvetten 5 zur Aufstandsebene, angeordnet sein.

Die Fig. 3 und 4 zeigen Halteelemente 17, angeordnet an den Seitenwänden 4, eines erfindungsgemäßen Behälters 1. Die Halteelemente 17 bestehen aus zwei Seitenteilen 18, die wahlweise auch mit der Bodenplatte 3 verbunden sein können. Die Seitenteile 18 sind beabstandet angeordnet, sodass ein Abstandhalter 26 einer Einrichtung 22 zwischen die beiden Seitenteile 18 des Halteelements 17 eingeführt werden kann. Die Halteelemente 17 können sowohl an der Längsseite 19 als auch an der Querseite 20 der Seitenwände 4 des Behälters 1 angeordnet sein. Außerdem ist es auch möglich, die Halteelemente 17 in den Ecken 21 des Behälters 1 anzuordnen. Ein Halteelement 17 der Einrichtung 22 zur Unterteilung eines Volumens verhindert, dass die Einrichtung 22 während möglicher Bewegungen des Behälters 1 während der Bearbeitung unbeabsichtigt verrutscht. Die Halteelemente 17 an den Seitenwänden 4 des Grundkörpers 2 können in beliebiger Anzahl vorhanden sein. In der Fig. 3 werden beispielsweise acht Halteelemente 17 dargestellt, wobei jeweils zwei Halteelemente 17 an einer Längs- 19 bzw. Querseite 20 des Grundkörpers 2 angeordnet sind. In Fig. 4 werden vier Halteelemente 17, die jeweils in den Ecken 21 des Grundkörpers 2 angeordnet sind, dargestellt. Die Abstandhalter 25, die am Rahmen 24 der Einrichtung 22 angeordnet sind, werden in die Halteelemente 17 an den Seitenwänden 4 oder die Bodenplatte 3 des Behälters 1 eingeführt. Die Einrichtung 22 ist dadurch flexibel und kann jederzeit entfernt bzw. für weitere Analysen verwendet werden. In einer alternativen Ausführungsvariante kann die Einrichtung 22 auch an den Seitenwänden 4 oder der Bodenplatte 3 des Behälters 1 ohne Halteelemente 17, beispielsweise durch Verkleben, montiert sein. Diese Anordnungen der Halteelemente 17 sollen nur eine beispielhafte Ausführung der Halteelementenanordnung zeigen. Selbstverständlich kann auch jede beliebige andere Anordnung von Halteelementen 17 ausgewählt werden.

Die Anzahl der Küvetten 5 im Grundkörper 2 kann aus einer Gruppe ausgewählt sein, die die Zahlen, gebildet durch die mathematische Formel 3×2^n , wobei n eine natürliche Zahl ist, umfasst. Es können selbstverständlich auch Behälter 1 mit einer anderen als einer Standardgröße von Mikrotiterplatten entsprechenden Anzahl von Küvetten 5, wie z.B. 24, 48, 96, 384, 1536 etc. hergestellt werden.

Die Küvetten 5 haben in Draufsicht eine kreisförmige Grundfläche. In der Anordnung der Küvetten 5, wie in Fig. 1 bis 4 dargestellt, wird das zur Verfügung stehende Volumen bzw. die zur Verfügung stehende Grundfläche der Bodenplatte 3 sehr effizient ausgenutzt. Selbstverständlich ist es auch möglich, die Grundfläche der Küvetten 5 rechteckig, quadratisch oder in Form eines Parallelogramms auszubilden. Es ist auch möglich, die zueinander parallelen Reihen der Küvetten 5 gegeneinander in Richtung der Längserstreckung des Behälters 1 versetzt anzuordnen. In einer anderen Ausführungsform ist es auch möglich, die Küvetten 5 mit regelmäßig sechseckigen Querschnitt auszubilden und die Küvetten 5 bienenwabenartig anzuordnen. Für die automatisierte Bearbeitung des Behälters 1 mit standardisierten Laborrobotern eignet sich eine Anordnung der Küvetten 5 mit kreisförmiger Grundfläche in Reihen am besten.

Der Behälter 1 ist bevorzugt aus Polystyrol oder COC gefertigt. Selbstverständlich kann der Behälter 1 auch aus einem anderen Werkstoff hergestellt werden, bevorzugt Kunststoffe, die sich für die Formgebung mit Spritzgusstechnik eignen, wie z.B. Polypropylen, Acrylnitril, etc. Es kann auch eine Kombination von zwei oder mehr Materialien bzw. verschiedenen Kunststoffen verwendet werden, wobei beispielsweise für die Küvetten 5, COC und für die Bildung der Bodenplatte 3, Polystyrol verwendet wird. In einer alternativen Ausführungsform werden die Bodenplatte 3 und die Küvetten 5 aus COC und die Seitenwände 4 aus Polystyrol gebildet.

In der Bodenplatte 3 des Grundkörpers 2 bzw. an den Seitenwänden 4 können Markierungen zur Koordinatenerkennung des Behälters angegeben sein. Die Markierungen können sowohl optisch sichtbar sein, als auch nur durch geringfügige Veränderungen der Oberfläche 14 markiert sein, die von einem automatischen Labormanipulationssystem erkannt werden können.

Fig. 5 und 6 zeigen in Draufsicht eine Einrichtung 22 zur Unterteilung eines Volumens in Teilbereiche, wobei die Einrichtung 22 von zueinander rechtwinkelig angeordneten Stegen 23 gebildet wird. Wahlweise kann die Anordnung der Stege 23 auch in einem anderen geometrischen Muster, z.B. hexagonal, octogonal, etc., erfolgen. Zur Stabilitätsverbesserung können die Stege 23 von einem Rahmen 24 umgeben sein. Die Anzahl der Stege 23 ist variabel. So kann beispielsweise wie in Fig. 5 die Einrichtung 22 mit 16 Unterteilungen oder wie in Fig. 6 mit 24 Unterteilungen, ausgebildet sein. Selbstverständlich kann die erfindungsgemäße Einrichtung 22 auch jede beliebige andere Anzahl an Unterteilungen aufweisen.

Am Rahmen 24 der Einrichtung 22 können zur Anordnung in einem Behälter 1 untere 25 und seitliche 26 Abstandhalter angeordnet sein. Die unteren Abstandhalter 25 sind an der Unterkante 27 der Stege 23 bzw. des Rahmens 24 angeordnet. Die seitlichen Abstandhalter 26 sind jeweils an der Längs- 28, Querseite 29 und/oder den Ecken 30 der des Rahmens 24 der Einrichtung 22 angeordnet. In Fig. 5 ist beispielhaft dargestellt, dass an jeder Längs- 28 und Querseite 29 jeweils zwei seitliche Abstandhalter 26 angeordnet sind. Fig. 6 zeigt eine alternative Anordnung der seitlichen Abstandhalter 26 an den Ecken 30 des Rahmens 24 der Einrichtung 22.

Fig. 7 zeigt eine perspektivische Ansicht unterer Abstandhalter 25 zur Bodenplatte 3 einer erfindungsgemäßen Einrichtung 22. Die Abstandhalter 25 können in den Kreuzungsbereichen 31 der Stege 23 angeordnet sein bzw. an den Stegen 23 zwischen den Kreuzungsbereichen 31. Die Abstandhalter 25, 26 können zylindrisch (Fig. 7), plattenförmig (Fig. 8), etc. ausgebildet sein. Die Stege 23 bzw. der Rahmen 24 weisen im Bereich, wo sie als Abstandhalter fungieren, eine um ein Drittel bis zur Hälfte größere Höhe als in den Bereichen wo sie nicht als Abstandhalter fungieren. Durch die beabstandete Halterung der Einrichtung 22 im Grundkörper 2 wird es ermöglicht, dass die hydrophobe Flüssigkeit 9, die sich im Behälter 1 befindet, gleichmäßig über die gesamte Bodenplatte 3 verteilt wird. Durch die Verwendung der Einrichtung 22 wird erzielt, dass sich Bewegungen der hydrophoben Flüssigkeit 9 bei Erschütterungen des Behälters 1 nicht mit gleicher Intensität über die gesamte Bodenplatte 3 ausbreiten, weil die Einrichtung 22 als Wellenbrecher fungiert.

In Fig. 9 wird ein Schnitt durch eine Einrichtung 22 gezeigt, in welcher die Stege 23 der Einrichtung 22 durchgehend bis zur Bodenplatte 3 ausgebildet sind. Es können dadurch viele verschiedene separat gebildete Reaktionsräume 33 geschaffen werden. Die hydrophobe Flüssigkeit 9, die jeder Küvette 5 zugeordnet ist, kann dadurch in jedem Reaktionsraum 33 in jeweils einer anderen Zusammensetzung bzw. Konzentration verwendet werden. Beispielsweise wird es dadurch ermöglicht eine Verdünnungsreihe der Kristallisationsreagenzien 12, der Biomakromoleküle 11 und/oder der hydrophoben Flüssigkeit 9 auszutesten. In dieser Ausführungsvariante ist die Außenabmessung der Einrichtung 22 geringfügig kleiner oder gleich groß wie die Abmessung des Behälters 1.

Die Einrichtung 22 kann auch mit den seitlichen Abstandhaltern 26 auf die Seitenwände 4 des Grundkörpers 2 aufgesetzt werden. Die unteren Abstandhalter 25 ragen daher nur in das Reservoir 13 des Behälters 1. Die Stege 23 bzw. der Rahmen 24 weisen bei dieser Ausführungs-

variante im Bereich, wo sie als Abstandhalter fungieren, eine um mehr als ein Drittel bis zur Hälfte größere Höhe als in den Bereichen, wo sie nicht als Abstandhalter fungieren, auf. Bei dieser Ausführungsvariante sind die Außenabmessungen der Einrichtung 22 zumindest gleich groß oder größer wie die Abmessungen des Behälters 1.

5

Fig. 10 zeigt eine Draufsicht auf eine Kristallisationsvorrichtung 32, bestehend aus einem Behälter 1 und einer Einrichtung 22 zur Unterteilung eines Volumen in zusammengebautem Zustand.

10 In den Fig. 11 bis 16 sind verschiedene Ausführungsvarianten der Ausgestaltung der Küvetten 5 in Seitenansicht dargestellt. Die Böden 6 der Küvetten 5 können zumindest annähernd konkav gekrümmt sein, d.h. die Böden 6 bzw. die Bodenbereiche der Küvetten 5 können durch Erweiterungen der Küvetten 5 in der Form eines Kegels, eines Kegelstumpfes oder eines Kugelabschnittes oder Kombination solcher Körper ausgebildet sein. Durch derart ausgebildete
15 Reaktionsbereiche 8 wird die Deposition des Tropfens 10 unterstützt. Der Boden 6 der Küvetten 5 kann aus einem durchsichtigen Werkstoff bestehen, sodass das Kristallwachstum im Reaktionsbereich 8 ohne Manipulation beobachtet werden kann.

Fig. 11 zeigt eine Seitenansicht einer konischen Küvette 5 mit halbkugeligem Boden 6.

20

Fig. 12 stellt eine Seitenansicht einer zylindrischen Küvette 5 mit flachem Boden 6, Fig. 13 eine Seitenansicht einer zylindrischen Küvette 5 mit halbkugeligem Boden 6 und Fig. 14 eine Seitenansicht einer zylindrischen Küvette 5 mit kegelförmigen Boden 6 dar. Fig. 15 zeigt eine Seitenansicht einer konischen Küvette 5 mit flachem Boden 6 und Fig. 16 zeigt eine Seitenan-
25 sicht einer konischen Küvette 5 mit kegelförmigen Boden 6.

Fig. 17 zeigt eine Prinzipdarstellung der erfindungsgemäßen Verwendung der Kristallisationsvorrichtung 32 mittels Microbatch-Methode. In den Reaktionsbereich 8 der Küvetten 5 des Behälters 1 ist ein Tropfen 10 mit Biomakromolekülen 11 und Kristallisationsreagenzien 12 gefüllt, während sich im Behälter 1 bzw. in den Küvetten 5 die hydrophobe Flüssigkeit 9 befindet. In den Küvetten 5 kann zwischen dem Tropfen 10 und der hydrophoben Flüssigkeit 9 eine Diffusion stattfinden. Die Reaktionsverläufe in den Küvetten 5 können mit einem Mikroskop beobachtet werden. Ein Beispiel für eine Reaktion, die in einem Behälter 1 durchgeführt werden kann, ist die Herstellung eines Kristalls aus in Kristallisationsreagenzien 12 gelösten Biomakromolekülen 11, wie bereits in der Beschreibung ausgeführt wurde. Es wird eine ge-
30
35

ringe Menge an Biomakromolekülen 11, kombiniert mit Kristallisationsreagenzien 12 unter eine Schicht einer hydrophoben Flüssigkeit 9 pipettiert. Wichtig bei diesem Verfahren ist es, dass die Reagenzien, die in die Kristallisation involviert sind, in einer spezifischen Konzentration vorliegen und keine signifikanten Konzentrationsverschiebungen des Biomakromoleküls 11 noch der Kristallisationsreagenzien 12 im Tropfen 10 auftreten. Durch die Veränderung der hydrophoben Flüssigkeit 9, beispielsweise Paraffinöl und/oder Silikonöl, bzw. dem Verhältnis der an der Bildung der hydrophoben Flüssigkeit 9 beteiligten Substanzen, kann eine Konzentrationsverschiebung im Tropfen 10 durch Diffusion von Wasser durch das Öl eintreten. Dadurch wird eine Konzentrationssteigerung des Biomakromoleküls 11 und der Kristallisationsreagenzien 12 unter der hydrophoben Flüssigkeit 9 erzielt. Durch diese Konzentrationsverschiebung kommt es zur Ausbildung von Kristallen, insbesondere von Einkristallen. Die im Tropfen 10 gebildeten Kristalle können mit Hilfe eines Detektionssystems beobachtet bzw. detektiert werden.

Der Behälter 1 kann wahlweise auch mit einer Gefäßabdeckung versehen sein. Diese Gefäßabdeckung kann sowohl aus dem gleichen Material wie der Behälter 1 als auch aus einem anderen Kunststoff hergestellt werden. Außerdem kann zur Abdeckung des Behälters 1 auch eine Folie verwendet werden. Diese Folie kann an den Seitenwänden 4 des Behälters 1 angeklebt werden. Weiters kann diese Folie auch mit den Stegen 23 der Einrichtung in Verbindung treten.

Der Ordnung halber sei abschließend darauf hingewiesen, dass zum besseren Verständnis des Aufbaus des Behälters 1 diese bzw. deren Bestandteile teilweise unmaßstäblich und/oder vergrößert und/oder verkleinert dargestellt wurden.

Die den eigenständigen erfinderischen Lösungen zugrundeliegende Aufgabe kann der Beschreibung entnommen werden.

Vor allem können die einzelnen in den Fig. 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17 gezeigten Ausführungen den Gegenstand von eigenständigen, erfindungsgemäßen Lösungen bilden. Die diesbezüglichen erfindungsgemäßen Aufgaben und Lösungen sind den Detailbeschreibungen dieser Figuren zu entnehmen.

Bezugszeichenaufstellung

5	1 Behälter
	2 Grundkörper
	3 Bodenplatte
	4 Seitenwand
	5 Kütvette
10	6 Boden
	7 Wand
	8 Reaktionsbereich
	9 hydrophobe Flüssigkeit
	10 Tropfen
15	11 Biomakromolekül
	12 Kristallisationsreagens
	13 Reservoir
	14 Oberfläche
20	15 Ausnehmung
	16 Trennwand
	17 Halteelement
	18 Seitenteil
25	19 Längsseite
	20 Querseite
	21 Ecke
	22 Einrichtung
30	23 Steg
	24 Rahmen
	25 Abstandhalter (unten)
	26 Abstandhalter (seitlich)
35	27 Unterkante
	28 Längsseite der Einrichtung
	29 Querseite der Einrichtung
	30 Ecke der Einrichtung
40	31 Kreuzungsbereich
	32 Kristallisationsvorrichtung
	33 Reaktionsraum

45

50

Patentansprüche

1. Behälter mit einem Grundkörper bestehend aus einer Bodenplatte und von dieser
zumindest annähernd senkrecht abstehenden Seitenwänden und mit im Grundkörper angeord-
5 neten Küvetten, dadurch gekennzeichnet, dass die Küvetten (5) als Vertiefung in der Boden-
platte (3) ausgebildet sind und die Seitenwände (4) der Bodenplatte (3) in zumindest annä-
hernd entgegengesetzter Richtung zu den Vertiefungen zur Aufnahme eines Volumens ange-
ordnet sind.
- 10 2. Behälter nach Anspruch 1, dadurch gekennzeichnet, dass die Küvetten (5) in einem
gleichmäßigen Raster angeordnet sind.
3. Behälter nach Anspruch 2, dadurch gekennzeichnet, dass 6, 12, 24, 48, 96, 384 oder
1536 Küvetten (5) angeordnet sind.
- 15 4. Behälter nach Anspruch 2 oder 3, dadurch gekennzeichnet, dass die Küvetten (5)
konisch oder zylindrisch ausgebildet sind.
5. Behälter nach einem der Ansprüche 2 bis 4, dadurch gekennzeichnet, dass die Küvet-
20 ten (5) ein Fassungsvermögen ausgewählt aus einem Bereich mit einer unteren Grenze von
0,01 µl, vorzugsweise 0,5 µl, insbesondere 0,1 µl, und einer oberen Grenze von 50 µl, vor-
zugsweise 10 µl, insbesondere 5 µl, aufweisen.
6. Behälter nach einem der vorhergehenden Ansprüche, dadurch gekennzeichnet, dass
25 die Böden (6) der Küvetten (5) in einer zu einer Behälteraufstandsfläche parallelen Ebene an-
geordnet sind.
7. Behälter nach einem der vorhergehenden Ansprüche, dadurch gekennzeichnet, dass
30 die Bodenplatte (3) bzw. die Küvetten (5) zur Ausbildung von Biomakromolekülen (11) be-
sonders oberflächenbehandelt sind.
8. Behälter nach einem der Ansprüche 2 bis 7, dadurch gekennzeichnet, dass die Küvet-
ten (5) mit Aldehyd, Silan, Epoxy, Thiol, Polyethylenglycol (PEG), Polyoxyethylen-Sorbitan-
Monolaureat (Tween®), magnetischen Materialien, Streptavidin oder Biotin oberflächenbe-
35 handelt sind.

9. Behälter nach einem der Ansprüche 2 bis 8, dadurch gekennzeichnet, dass die Küvetten (5) in Seitenansicht quadratisch, rechteckig, kegelförmig oder halbkugelförmig ausgebildet sind.

5 10. Behälter nach einem der Ansprüche 2 bis 9, dadurch gekennzeichnet, dass die Küvetten (5) in Draufsicht rund, viereckig, wie z.B. quadratisch, rechteckig, hexagonal, octogonal oder in Form eines Parallelogramms ausgebildet sind.

10 11. Behälter nach einem der Ansprüche 2 bis 10, dadurch gekennzeichnet, dass die Küvetten (5), insbesondere der Boden der Küvetten, zumindest teilweise aus einem transparenten Kunststoff ausgebildet sind.

15 12. Behälter nach einem der vorhergehenden Ansprüche, dadurch gekennzeichnet, dass die Bodenplatte (3), insbesondere zwischen den Küvetten (5), zumindest teilweise lichtundurchlässig ausgebildet ist.

20 13. Behälter nach einem der vorhergehenden Ansprüche, dadurch gekennzeichnet, dass die Oberfläche (14) der Bodenplatte (3), insbesondere zwischen den Küvetten (5), mit einer hydrophoben Substanz oberflächenbehandelt oder eine hydrophobe Maske aufgebracht ist.

25 14. Behälter nach einem der vorhergehenden Ansprüche, dadurch gekennzeichnet, dass der Grundkörper (2) aus einem Material ausgewählt aus einer Gruppe umfassend Polypropylen, Polystyrol, Acrylbutadienstyrol, Polyamid, Polycarbonat, Polymethylmethacrylat, Polysulfon, Cycloolefin-Copolymer, Polymethylpenten (TPX®) und/oder Styrolacrylnitril gebildet ist.

15. Behälter nach einem der vorhergehenden Ansprüche, dadurch gekennzeichnet, dass der Grundkörper (2) aus mehreren verschiedenen Materialien ausgebildet ist.

30 16. Behälter nach einem der vorhergehenden Ansprüche, dadurch gekennzeichnet, dass eine Koordinatenerkennung für die Anordnung der Küvetten (5) an der Bodenplatte (3) abgeordnet ist.

35 17. Behälter nach einem der vorhergehenden Ansprüche, dadurch gekennzeichnet, dass der Grundkörper (2) vorzugsweise mittels Spritzgussverfahren hergestellt ist.

18. Behälter nach einem der vorhergehenden Ansprüche, dadurch gekennzeichnet, dass an der Längsseite (19) und/oder an der Querseite (20) des Grundkörpers (2) eine Ausnehmung (15) angeordnet ist.

5 19. Behälter nach einem der vorhergehenden Ansprüche, dadurch gekennzeichnet, dass der Grundkörper (2) Abmessungen gemäß den Empfehlungen der SBS (Society of Biomolecular Screening) aufweist.

10 20. Behälter nach einem der vorhergehenden Ansprüche, dadurch gekennzeichnet, dass an den Seitenwänden (4) des Behälters (1) zumindest ein Halteelement (17) für eine Einrichtung (22) zur Unterteilung eines Volumens eines Behälters (1) in Teilbereiche vorhanden ist.

21. Einrichtung zur Unterteilung eines Volumens eines Behälters (1) in Teilbereiche, dadurch gekennzeichnet, dass diese gitterförmig ausgebildet ist.

15 22. Einrichtung nach Anspruch 21 dadurch gekennzeichnet, dass die Stege (23) außen von einem Rahmen (24) umgeben sind.

20 23. Einrichtung nach Anspruch 21 oder 22, dadurch gekennzeichnet, dass an der Unterseite der Einrichtung (22) Abstandhalter (25) zur Strömungsverbindung der Teilbereiche angeordnet sind.

24. Einrichtung nach einem der Ansprüche 21 bis 23, dadurch gekennzeichnet, dass die Stege (23) der Einrichtung (22) rechtwinkelig zueinander angeordnet sind.

25 25. Einrichtung nach einem der Ansprüche 21 bis 24, dadurch gekennzeichnet, dass die Einrichtung (22) in den Kreuzungsbereichen (31) der Stege (23) bzw. der Stege (23) mit dem Rahmen (24) eine um ein Drittel bis zur Hälfte größere Höhe als zwischen den Kreuzungsbereichen (31) aufweist.

30 26. Einrichtung nach einem der Ansprüche 21 bis 25, dadurch gekennzeichnet, dass die Stege (23) und/oder der Rahmen (24) die gleiche Höhe aufweisen.

35 27. Einrichtung nach einem der Ansprüche 21 bis 26, dadurch gekennzeichnet, dass die Rahmen (24) Abstandhalter (26) zur beabstandeten Halterung der Einrichtung (22) zu den

Seitenwänden (4) des Behälters (1) aufweist.

28. Einrichtung nach einem der Ansprüche 21 bis 27, dadurch gekennzeichnet, dass die Außenabmessungen geringfügig kleiner als die Abmessungen des Behälters (1) sind.

5

29. Einrichtung nach einem der Ansprüche 21 bis 28, dadurch gekennzeichnet, dass diese aus einem Material ausgewählt aus einer Gruppe umfassend Polypropylen, Polystyrol, Acrylbutadienstyrol, Polyamid, Polycarbonat, Polymethylmethacrylat, Polysulfon, Cycloolefin-Copolymer, Polymethylpenten (TPX®) und/oder Styrolacrylnitril gebildet ist.

10

30. Kristallisationsvorrichtung (32) bestehend aus einem Behälter (1) mit einem Grundkörper (2) aus einer Bodenplatte (3) und von dieser zumindest annähernd senkrecht abstehenden Seitenwänden (4) und mit im Grundkörper (2) angeordneten Küvetten (5) und einer Einrichtung (22) zur Unterteilung eines Volumens eines Behälters (1) in Teilbereiche nach einem der Ansprüche 1 bis 20 und einem der Ansprüche 21 bis 29.

15

31. Verwendung des Behälters (1) nach einem der Ansprüche 1 bis 20 zur Kristallisation von Biomakromolekülen (11) in einem Kristallisationsreagens (12) in bzw. unter einer hydrophoben Flüssigkeit (9).

20

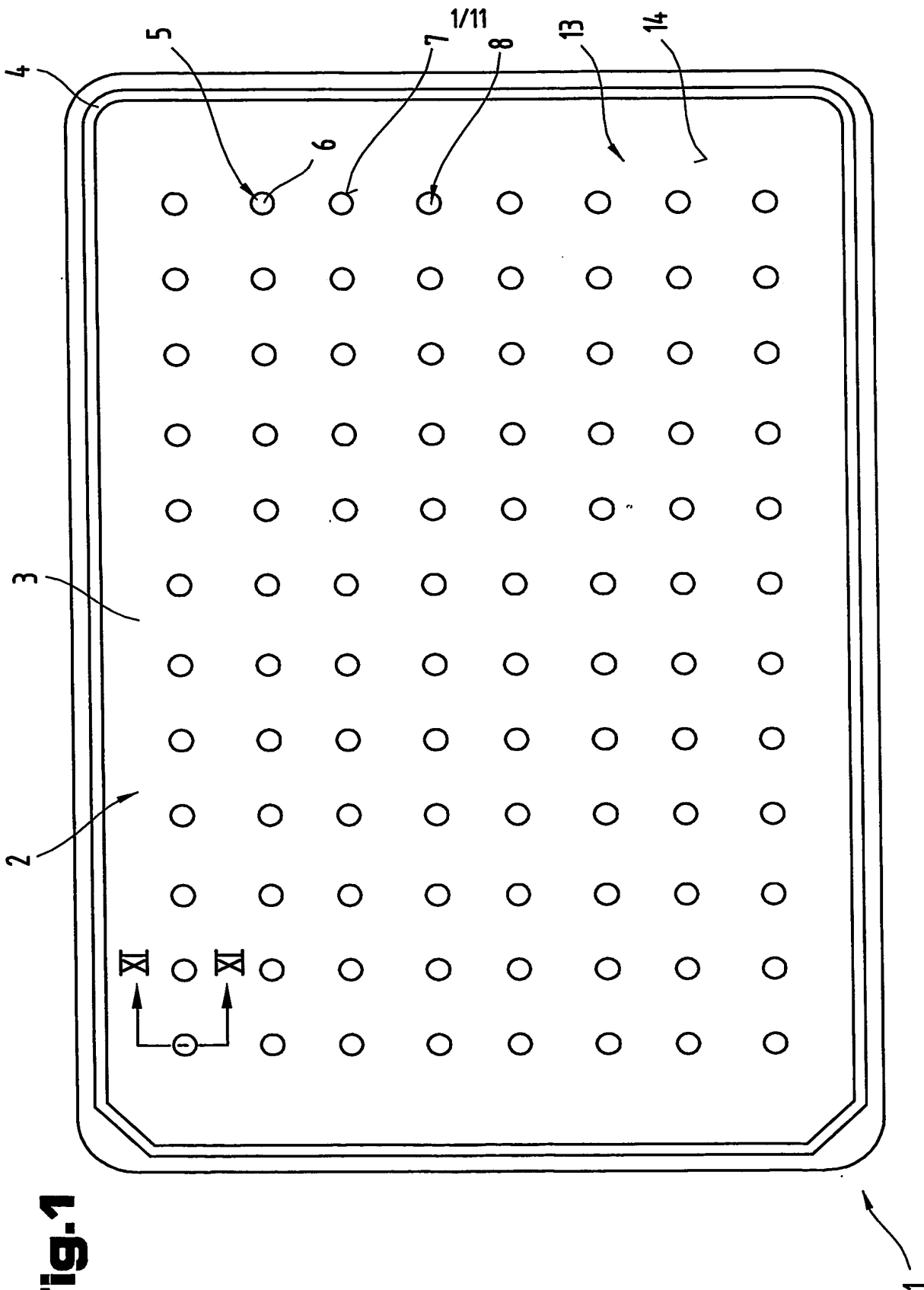
32. Verwendung der Einrichtung (22) nach einem der Ansprüche 21 bis 29 zur Abschwächung der Wellen eines bewegten Volumens in einem Behälter.

25

33. Verwendung der Kristallisationsvorrichtung (32) nach Anspruch 30 zur Kristallisation von Biomakromolekülen (11) in einem Kristallisationsreagens (12) in bzw. unter einer hydrophoben Flüssigkeit (9).

30

35



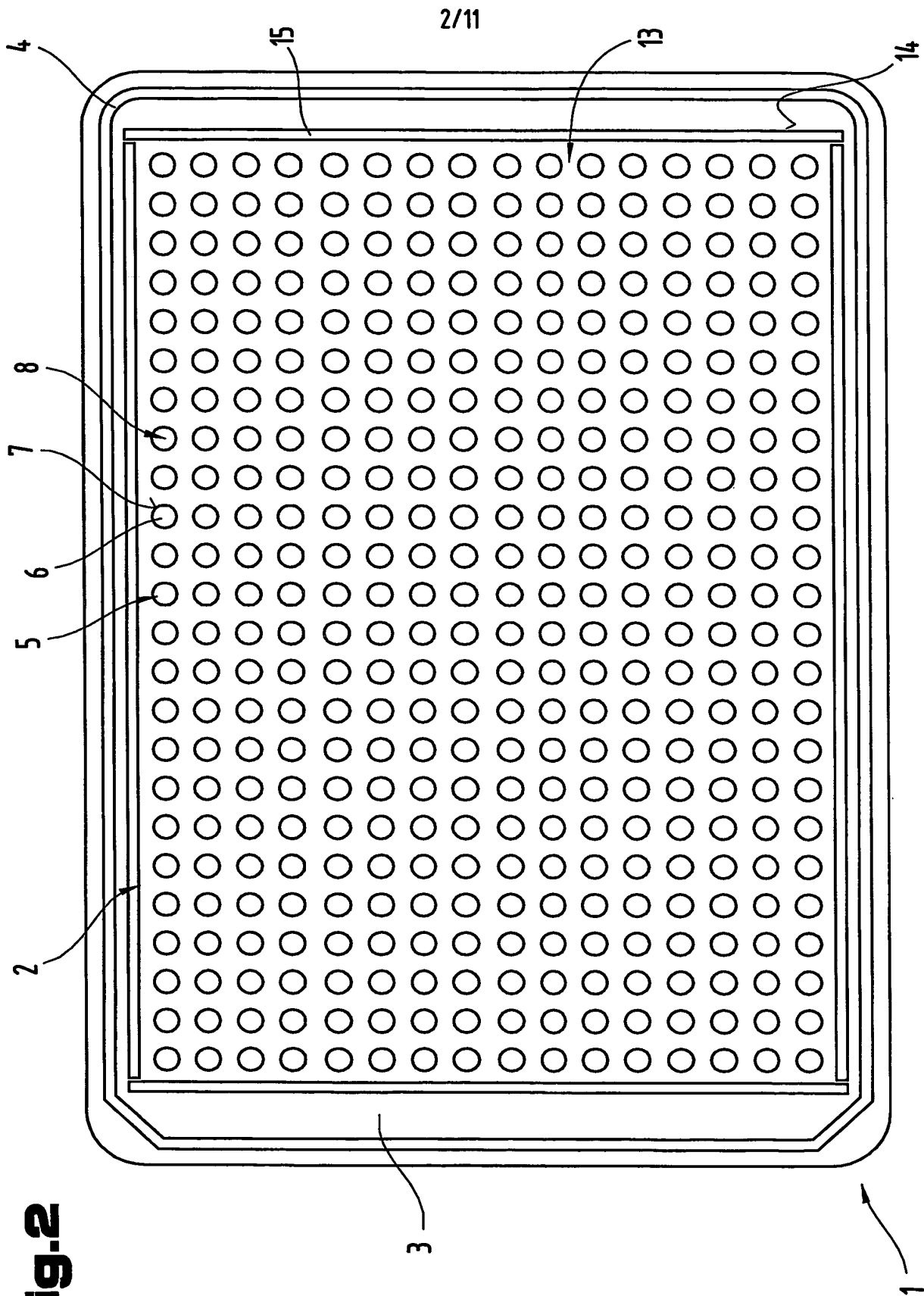


Fig. 2

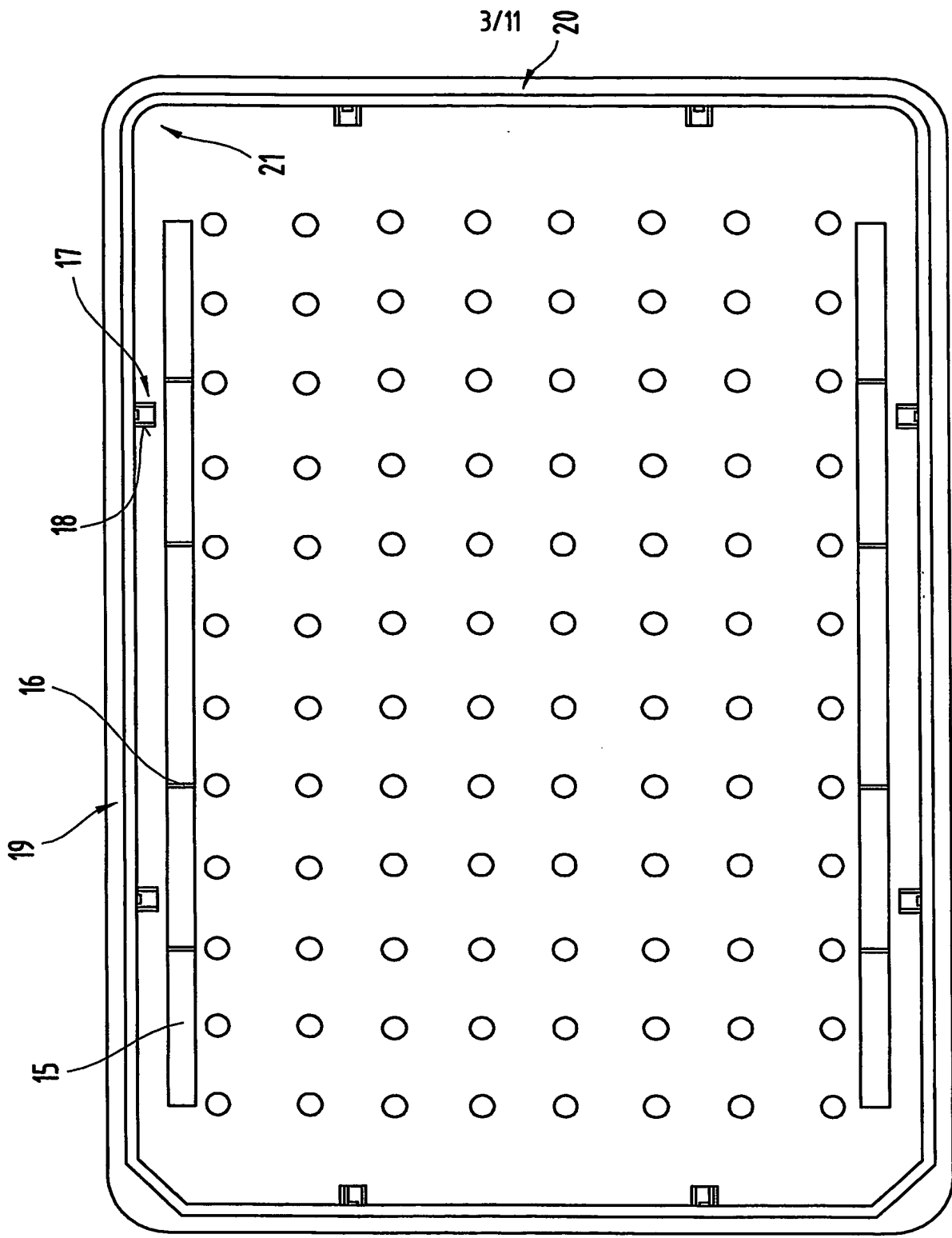


Fig. 3

4/11

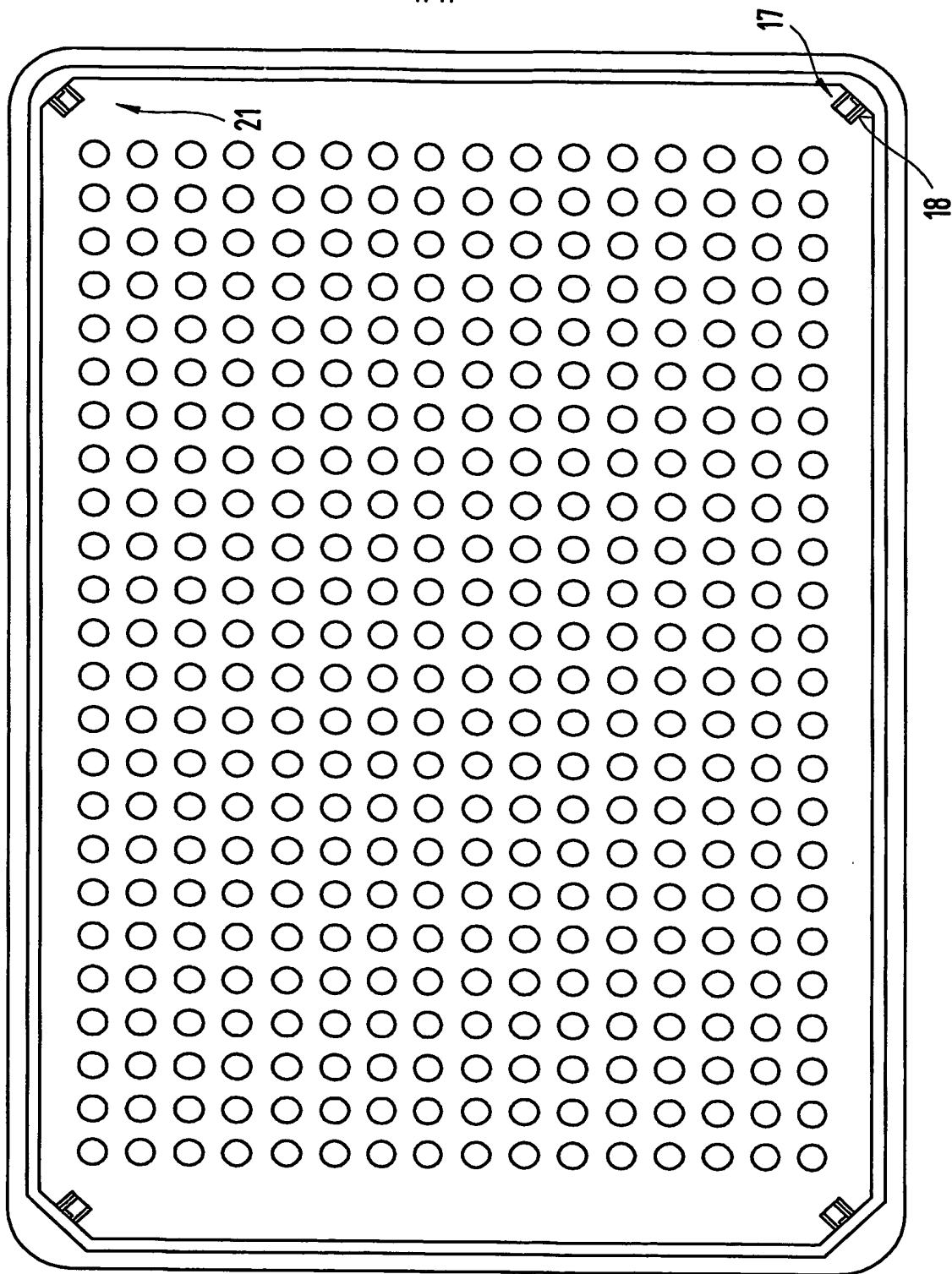


Fig.4

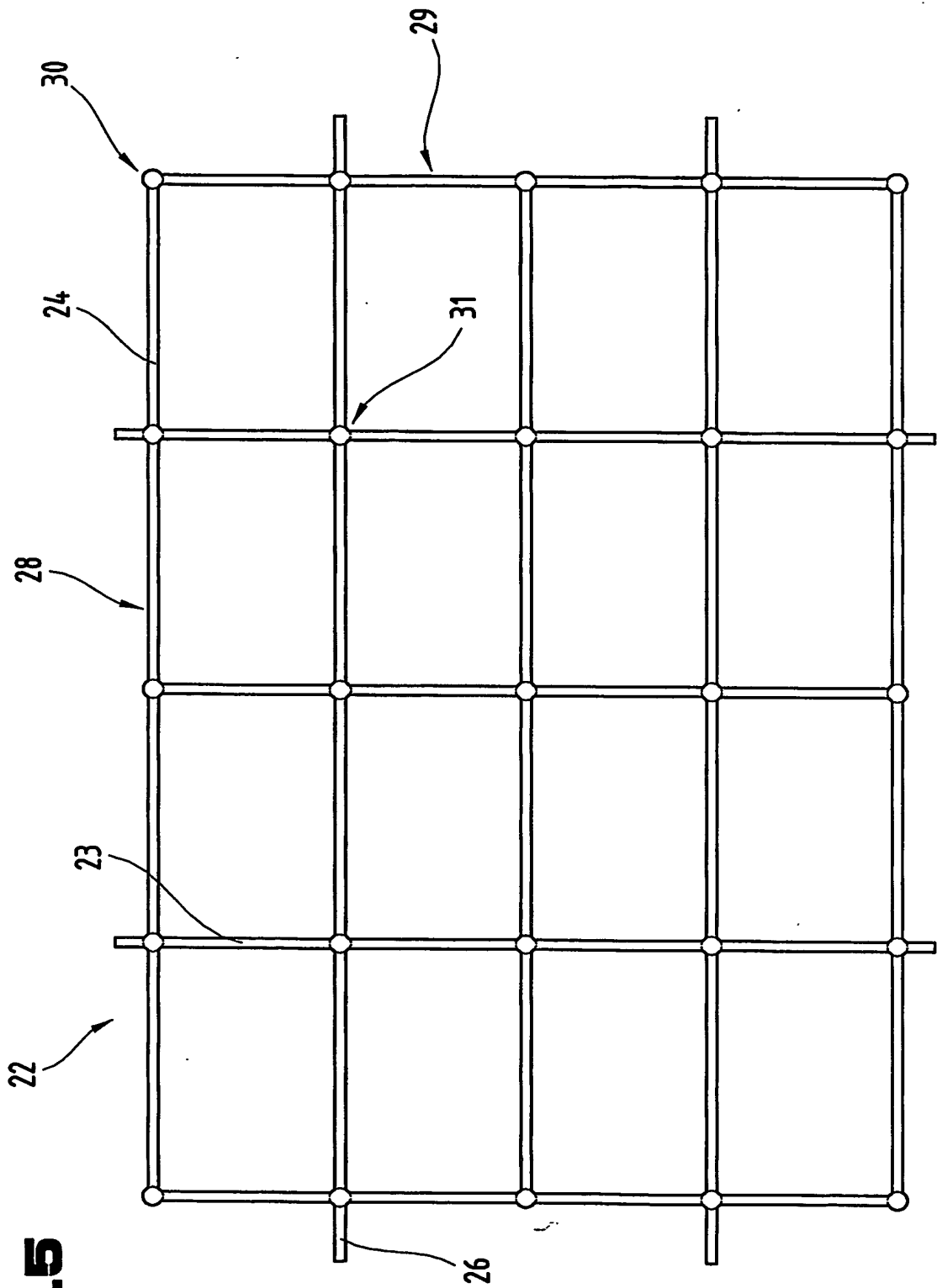


Fig. 5

6/11

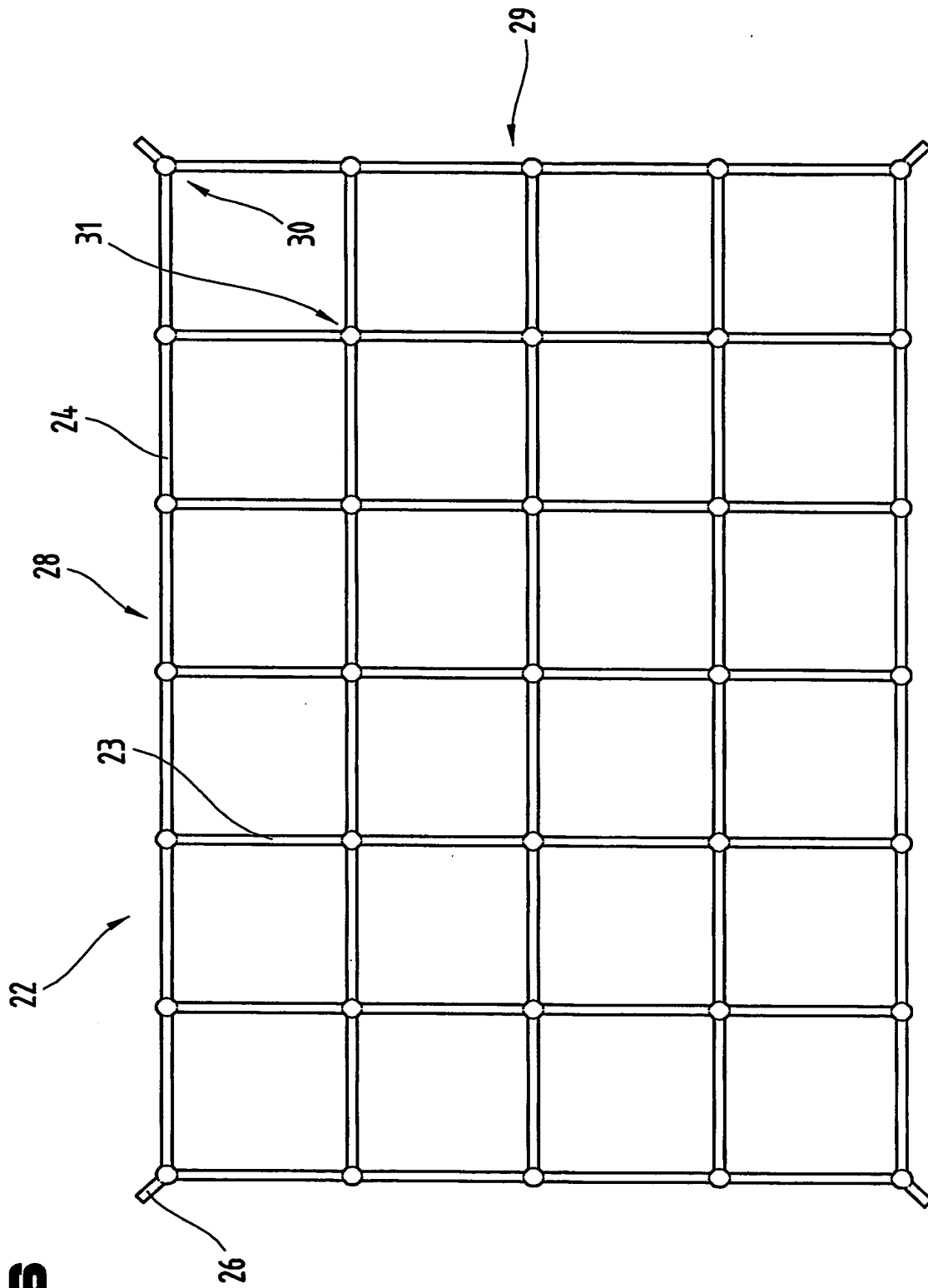


Fig. 6

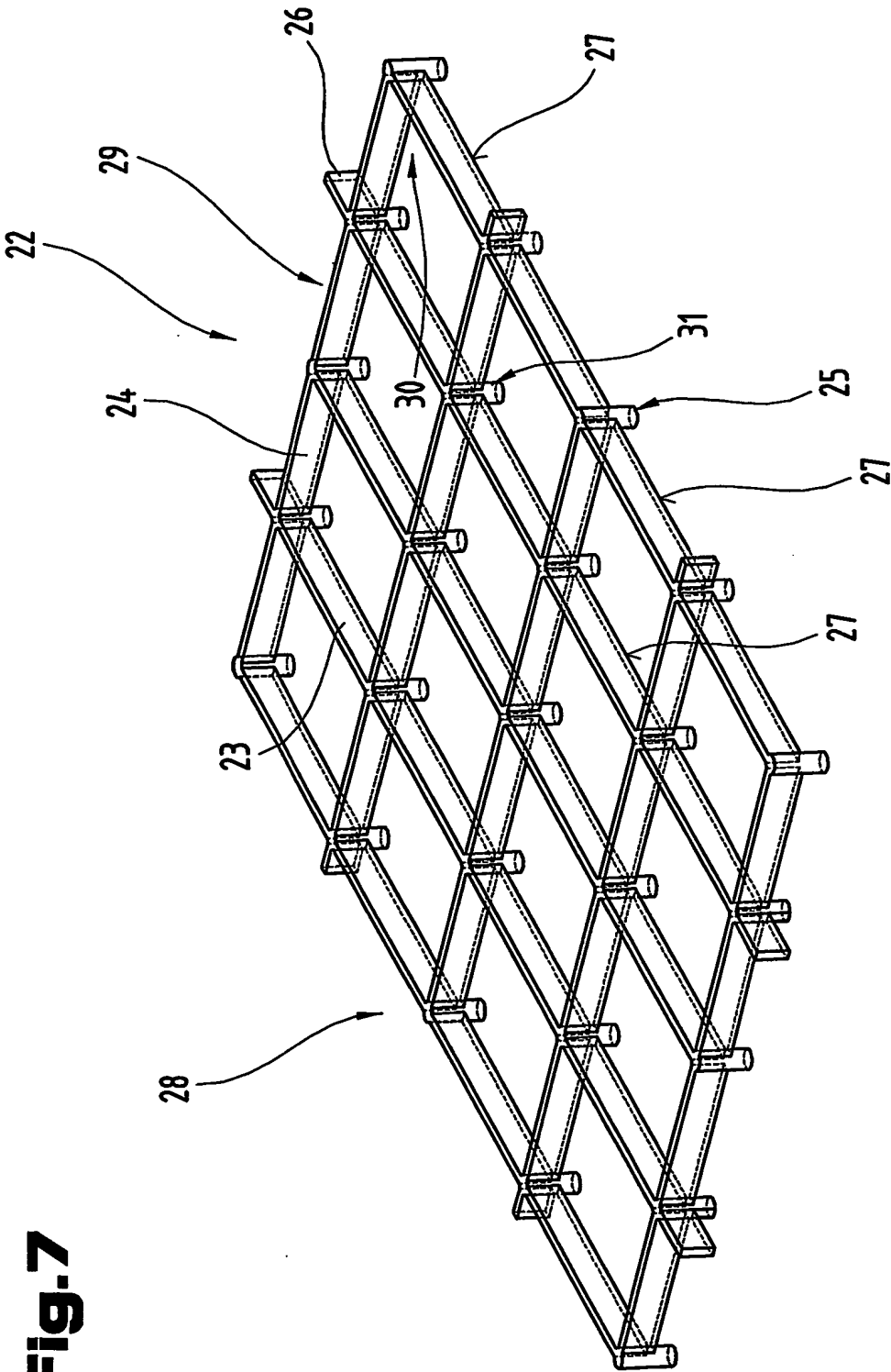


Fig. 7

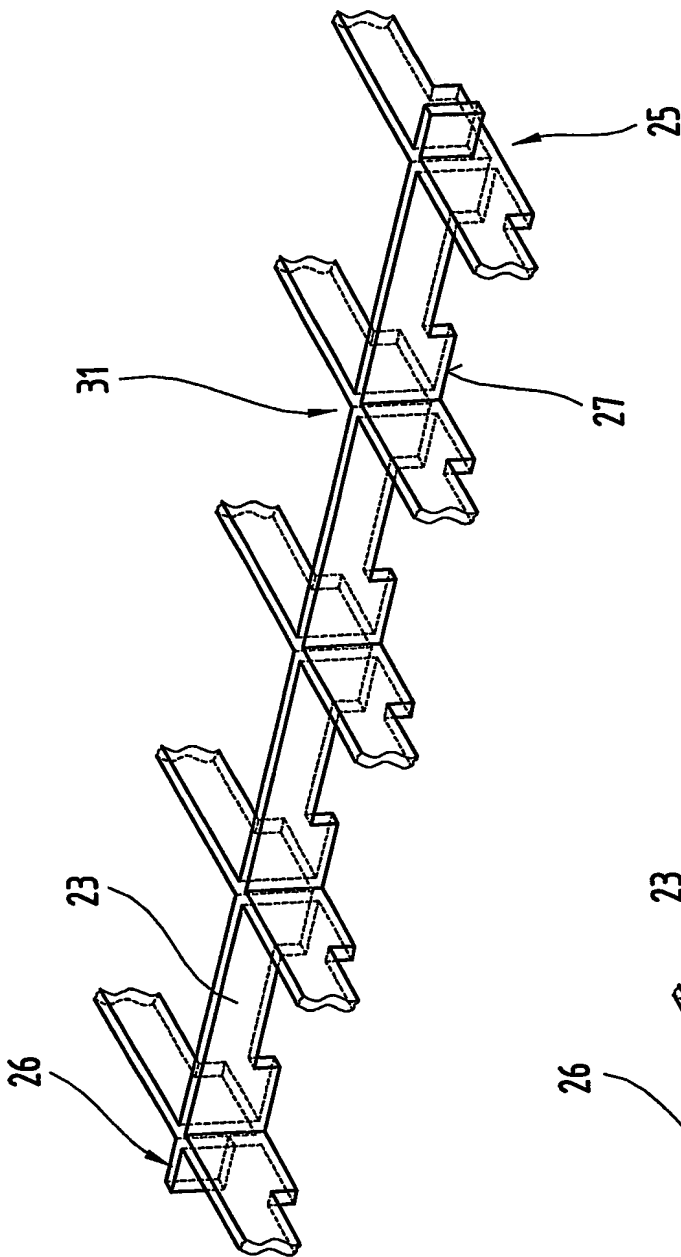


Fig. 8

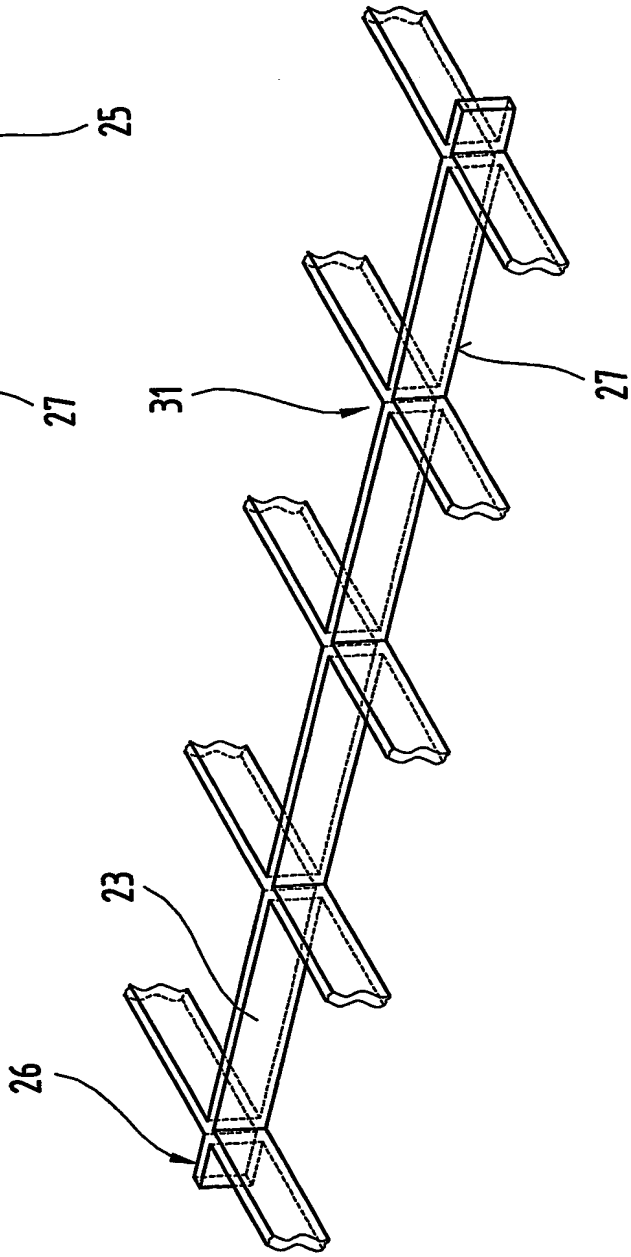


Fig. 9

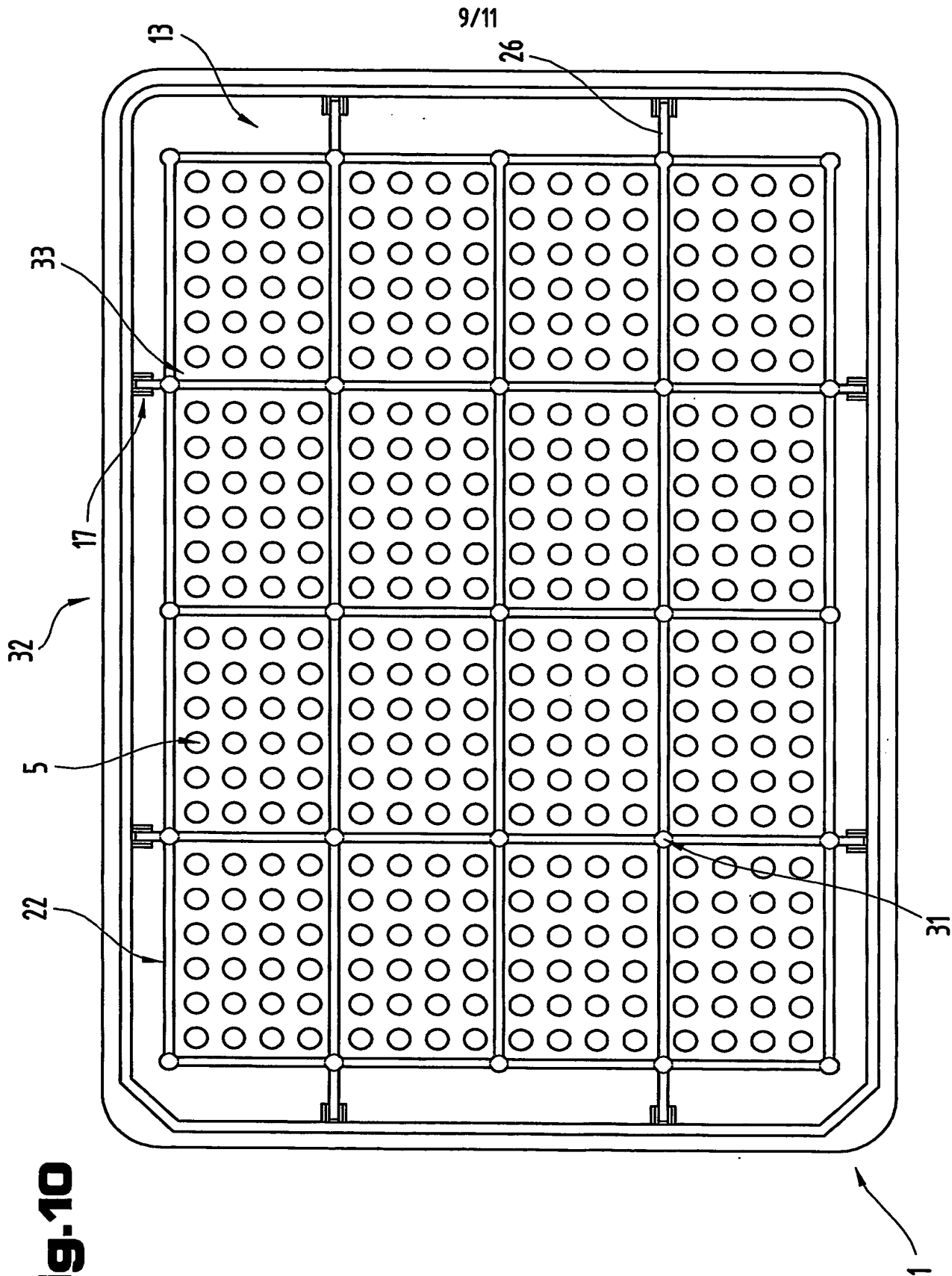


Fig.11

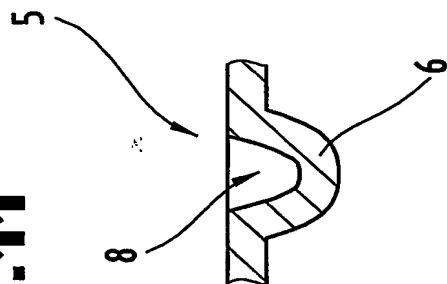


Fig.12

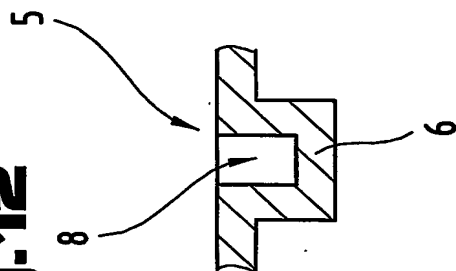


Fig.13

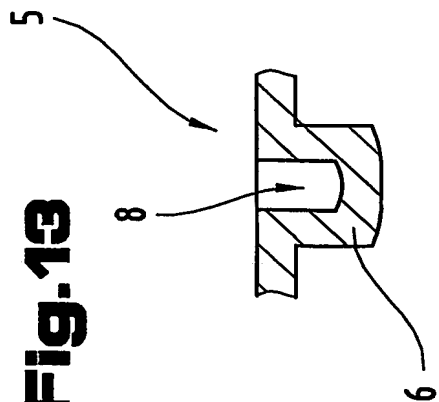


Fig.14

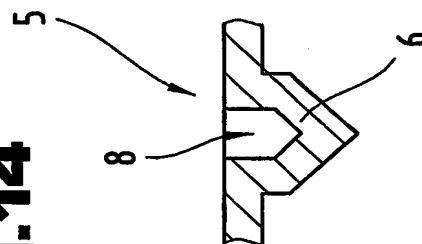


Fig.15

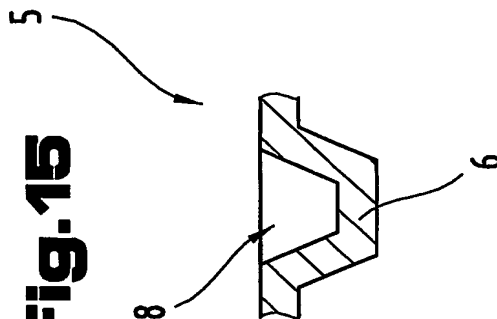


Fig.16

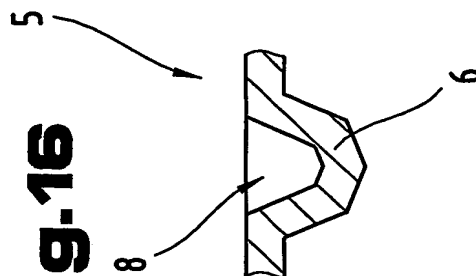
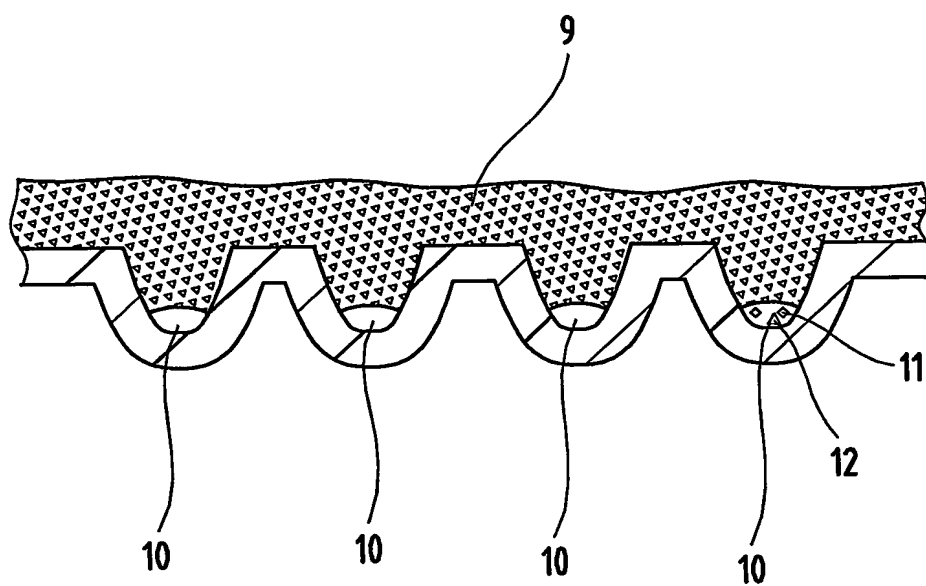


Fig.17

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International Application No

PCT/EP 03/04454

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

IPC 7 B01L3/00 C30B7/00 B01J19/00

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)

IPC 7 B01L C30B B01J C12M B65D G01N

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practical, search terms used)

EPO-Internal, WPI Data, PAJ

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category *	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	US 4 673 651 A (BILLUPS JR JAMES O ET AL) 16 June 1987 (1987-06-16) column 4, line 36 -column 5, line 2; figure 6 column 5, line 44 -column 5, line 52 claims 1-4	1-12, 14, 16-24, 26, 27, 32
X	WO 99 42608 A (AURORA BIOSCIENCES CORP ; HAROOTUNIAN ALEC TATE (US); PHAM ANDREW A) 26 August 1999 (1999-08-26) the whole document	1-20, 31
X	US 5 429 236 A (EVANS EVAN D) 4 July 1995 (1995-07-04) figures 6-10 column 1, line 1 -column 6, line 42 -/-	21-29, 32

☒ Further documents are listed in the continuation of box C.

☒ Patent family members are listed in annex.

* Special categories of cited documents:

- "A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance
- "E" earlier document but published on or after the international filing date
- "L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)
- "O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means
- "P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed

- "T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention
- "X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone
- "Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art
- "&" document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search

20 August 2003

Date of mailing of the international search report

29/08/2003

Name and mailing address of the ISA

European Patent Office, P.B. 5818 Patentlaan 2
NL - 2280 HV Rijswijk
Tel. (+31-70) 340-2040, Tx. 31 651 epo nl,
Fax: (+31-70) 340-3016

Authorized officer

Tiede, R

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International Application No

PCT/EP 03/04454

C.(Continuation) DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category *	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	US 3 728 228 A (DURANTY L) 17 April 1973 (1973-04-17) the whole document ----	21, 24, 26-29
X	WO 99 55826 A (GENOVA PHARMACEUTICALS CORP) 4 November 1999 (1999-11-04) claims 1-10 figures 1-4 page 2 -page 5 ----	21, 22, 24, 26-30
X	GB 2 321 446 A (LI JOHN) 29 July 1998 (1998-07-29) abstract; figures 1-9 ----	21-24, 26-29
A	CHAYEN N E ET AL: "MICROBATCH CRYSTALLIZATION UNDER OIL - A NEW TECHNIQUE ALLOWING MANY SMALL-VOLUME CRYSTALLIZATION TRIALS" JOURNAL OF CRYSTAL GROWTH, NORTH-HOLLAND PUBLISHING CO. AMSTERDAM, NL, vol. 122, no. 1 / 4, 2 August 1992 (1992-08-02), pages 176-180, XP000306492 ISSN: 0022-0248 the whole document ----	31, 33
A	US 4 204 045 A (DANIELSSON DAN G ET AL) 20 May 1980 (1980-05-20) the whole document ----	21-29
A	US 2001/032582 A1 (LUFT JOSEPH R ET AL) 25 October 2001 (2001-10-25) paragraphs '0056!-'0060! ----	1-33
P, X	WO 02 081785 A (CHAYEN NAOMI ESTHER ;IMP COLLEGE INNOVATIONS LTD (GB)) 17 October 2002 (2002-10-17) the whole document -----	1-20, 31

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Information on patent family members

International Application No

PCT/EP 03/04454

Patent document cited in search report		Publication date	Patent family member(s)	Publication date
US 4673651	A	16-06-1987	US 4786601 A	22-11-1988
WO 9942608	A	26-08-1999	US 6171780 B1	09-01-2001
			AU 2787099 A	06-09-1999
			EP 1066400 A1	10-01-2001
			WO 9942608 A1	26-08-1999
			US 6426050 B1	30-07-2002
			US 6254833 B1	03-07-2001
			US 2002155617 A1	24-10-2002
			US 2003039591 A1	27-02-2003
			US 6517781 B1	11-02-2003
US 5429236	A	04-07-1995	AU 3833193 A	04-11-1993
			NZ 247542 A	24-02-1997
US 3728228	A	17-04-1973	NONE	
WO 9955826	A	04-11-1999	AU 3753599 A	16-11-1999
			WO 9955826 A1	04-11-1999
GB 2321446	A	29-07-1998	AU 7538196 A	18-06-1998
US 4204045	A	20-05-1980	NONE	
US 2001032582	A1	25-10-2001	CA 2344887 A1	21-10-2001
WO 02081785	A	17-10-2002	WO 02081785 A1	17-10-2002

INTERNATIONALER RECHERCHENBERICHT

Internationales Aktenzeichen
PCT/EP 03/04454

A. KLASSIFIZIERUNG DES ANMELDUNGSGEGENSTANDES
IPK 7 B01L3/00 C30B7/00 B01J19/00

Nach der Internationalen Patentklassifikation (IPK) oder nach der nationalen Klassifikation und der IPK

B. RECHERCHIERTE GEBIETE

Recherchierte Mindestprüfstoff (Klassifikationssystem und Klassifikationssymbole)
IPK 7 B01L C30B B01J C12M B65D G01N

Recherchierte aber nicht zum Mindestprüfstoff gehörende Veröffentlichungen, soweit diese unter die recherchierten Gebiete fallen

Während der internationalen Recherche konsultierte elektronische Datenbank (Name der Datenbank und evtl. verwendete Suchbegriffe)

EPO-Internal, WPI Data, PAJ

C. ALS WESENTLICH ANGESEHENE UNTERLAGEN

Kategorie*	Bezeichnung der Veröffentlichung, soweit erforderlich unter Angabe der in Betracht kommenden Teile	Betr. Anspruch Nr.
X	US 4 673 651 A (BILLUPS JR JAMES O ET AL) 16. Juni 1987 (1987-06-16) Spalte 4, Zeile 36 -Spalte 5, Zeile 2; Abbildung 6 Spalte 5, Zeile 44 -Spalte 5, Zeile 52 Ansprüche 1-4 ---	1-12,14, 16-24, 26,27,32
X	WO 99 42608 A (AURORA BIOSCIENCES CORP ;HAROOTUNIAN ALEC TATE (US); PHAM ANDREW A) 26. August 1999 (1999-08-26) das ganze Dokument ---	1-20,31
X	US 5 429 236 A (EVANS EVAN D) 4. Juli 1995 (1995-07-04) Abbildungen 6-10 Spalte 1, Zeile 1 -Spalte 6, Zeile 42 --- -/-	21-29,32

☒ Weitere Veröffentlichungen sind der Fortsetzung von Feld C zu entnehmen

☒ Siehe Anhang Patentfamilie

- * Besondere Kategorien von angegebenen Veröffentlichungen :
 - *A* Veröffentlichung, die den allgemeinen Stand der Technik definiert, aber nicht als besonders bedeutsam anzusehen ist
 - *E* älteres Dokument, das jedoch erst am oder nach dem internationalen Anmeldedatum veröffentlicht worden ist
 - *L* Veröffentlichung, die geeignet ist, einen Prioritätsanspruch zweifelhaft erscheinen zu lassen, oder durch die das Veröffentlichungsdatum einer anderen im Recherchenbericht genannten Veröffentlichung belegt werden soll oder die aus einem anderen besonderen Grund angegeben ist (wie ausgeführt)
 - *O* Veröffentlichung, die sich auf eine mündliche Offenbarung, eine Benutzung, eine Ausstellung oder andere Maßnahmen bezieht
 - *P* Veröffentlichung, die vor dem internationalen Anmeldedatum, aber nach dem beanspruchten Prioritätsdatum veröffentlicht worden ist

- *T* Spätere Veröffentlichung, die nach dem internationalen Anmeldedatum oder dem Prioritätsdatum veröffentlicht worden ist und mit der Anmeldung nicht kollidiert, sondern nur zum Verständnis des der Erfindung zugrundeliegenden Prinzips oder der ihr zugrundeliegenden Theorie angegeben ist
- *X* Veröffentlichung von besonderer Bedeutung; die beanspruchte Erfindung kann allein aufgrund dieser Veröffentlichung nicht als neu oder auf erfinderischer Tätigkeit beruhend betrachtet werden
- *Y* Veröffentlichung von besonderer Bedeutung; die beanspruchte Erfindung kann nicht als auf erfinderischer Tätigkeit beruhend betrachtet werden, wenn die Veröffentlichung mit einer oder mehreren anderen Veröffentlichungen dieser Kategorie in Verbindung gebracht wird und diese Verbindung für einen Fachmann naheliegend ist
- *Z* Veröffentlichung, die Mitglied derselben Patentfamilie ist

Datum des Abschlusses der internationalen Recherche

20. August 2003

Absenddatum des internationalen Recherchenberichts

29/08/2003

Name und Postanschrift der internationalen Recherchenbehörde
Europäisches Patentamt, P.B. 5818 Patentlaan 2
NL - 2280 HV Rijswijk
Tel. (+31-70) 340-2040, Tx. 31 651 epo nl,
Fax: (+31-70) 340-3016

Bevollmächtigter Bediensteter

Tiede, R

INTERNATIONALER RECHERCHENBERICHT

Internationales Aktenzeichen

PCT/EP 03/04454

C.(Fortsetzung) ALS WESENTLICH ANGESEHENE UNTERLAGEN

Kategorie*	Bezeichnung der Veröffentlichung, soweit erforderlich unter Angabe der in Betracht kommenden Teile	Betr. Anspruch Nr.
X	US 3 728 228 A (DURANTY L) 17. April 1973 (1973-04-17) das ganze Dokument	21,24, 26-29
X	WO 99 55826 A (GENOVA PHARMACEUTICALS CORP) 4. November 1999 (1999-11-04) Ansprüche 1-10 Abbildungen 1-4 Seite 2 -Seite 5	21,22, 24,26-30
X	GB 2 321 446 A (LI JOHN) 29. Juli 1998 (1998-07-29) Zusammenfassung; Abbildungen 1-9	21-24, 26-29
A	CHAYEN N E ET AL: "MICROBATCH CRYSTALLIZATION UNDER OIL - A NEW TECHNIQUE ALLOWING MANY SMALL-VOLUME CRYSTALLIZATION TRIALS" JOURNAL OF CRYSTAL GROWTH, NORTH-HOLLAND PUBLISHING CO. AMSTERDAM, NL, Bd. 122, Nr. 1 / 4, 2. August 1992 (1992-08-02), Seiten 176-180, XP000306492 ISSN: 0022-0248 das ganze Dokument	31,33
A	US 4 204 045 A (DANIELSSON DAN G ET AL) 20. Mai 1980 (1980-05-20) das ganze Dokument	21-29
A	US 2001/032582 A1 (LUFT JOSEPH R ET AL) 25. Oktober 2001 (2001-10-25) Absätze '0056!-'0060!	1-33
P,X	WO 02 081785 A (CHAYEN NAOMI ESTHER ;IMP COLLEGE INNOVATIONS LTD (GB)) 17. Oktober 2002 (2002-10-17) das ganze Dokument	1-20,31

INTERNATIONALER RECHERCHENBERICHT

Angaben zu Veröffentlichungen, die zur selben Patentfamilie gehören

Internationales Aktenzeichen

PCT/EP 03/04454

Im Recherchenbericht angeführtes Patentdokument		Datum der Veröffentlichung	Mitglied(er) der Patentfamilie		Datum der Veröffentlichung
US 4673651	A	16-06-1987	US	4786601 A	22-11-1988
WO 9942608	A	26-08-1999	US	6171780 B1	09-01-2001
			AU	2787099 A	06-09-1999
			EP	1066400 A1	10-01-2001
			WO	9942608 A1	26-08-1999
			US	6426050 B1	30-07-2002
			US	6254833 B1	03-07-2001
			US	2002155617 A1	24-10-2002
			US	2003039591 A1	27-02-2003
			US	6517781 B1	11-02-2003
US 5429236	A	04-07-1995	AU	3833193 A	04-11-1993
			NZ	247542 A	24-02-1997
US 3728228	A	17-04-1973	KEINE		
WO 9955826	A	04-11-1999	AU	3753599 A	16-11-1999
			WO	9955826 A1	04-11-1999
GB 2321446	A	29-07-1998	AU	7538196 A	18-06-1998
US 4204045	A	20-05-1980	KEINE		
US 2001032582	A1	25-10-2001	CA	2344887 A1	21-10-2001
WO 02081785	A	17-10-2002	WO	02081785 A1	17-10-2002